



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO DE SISTEMAS TOPICOS.
EVALUACION DE LA LIBERACION Y
PERMEACION DE UN FARMACO
ANTI-INFLAMATORIO NO ESTEROIDAL
A TRAVES DE LA PIEL

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA
MIRYAM PEREZ PALMA



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2005

m. 344489



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

Jurado asignado:

Presidente Prof. Gabriel Rene Guzmán Martínez
Vocal Prof. Carolina Muñoz Padilla
Secretario Prof. Martín Rueda Espinosa A.
1er. Suplente Prof. María Josefa Bernad Bernad
2º. Suplente Prof. Julio Cesar Rivera Leyva

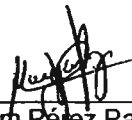
Sitio en donde se desarrolló el tema: Centro A.F. de Estudios Tecnológicos, S.A.



Martín Rueda Espinosa
Asesor del Tema



Miriam Villa Vargas
Supervisor Técnico



Miryam Pérez Palma
Sustentante

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Miryam Pérez Palma

FECHA: May. 25, 2005

FIRMA: 

DEDICATORIA

To God, my parents and my brother, due to when nobody else can understand me, when everything I do is wrong, they give me hope and consolation, they give me strength to carry on and they are always there to lend a hand in everything I do.

To C. Frausto, V. Romero, O. Rebollar, A. González, N. Martínez, A. Flores, O. Contreras, J. García L, M. Ramirez, who have believed on me and given me your support, friendship and advices.

AGRADECIMIENTOS

A Martín Rueda y Miriam Villa, quienes confiaron en mí y me dieron la oportunidad de trabajar en este proyecto.

A la Dra. Adriana Ganem por su valiosa ayuda y consejos.

A la M. en F. Socorro Alpizar, por sus consejos, apoyo, orientación y confianza

ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
INTRODUCCIÓN.....	5
OBJETIVOS.....	7
<i>OBJETIVOS GENERALES</i>	7
<i>Objetivos Particulares</i>	7
HIPOTESIS.....	9
MARCO TEORICO.....	10
FORMAS FARMACEUTICAS DE DOSIFICACIÓN: SISTEMAS DISPERSOS	10
I. GELES	10
A. Clasificación	10
B. Difusión de Fármacos	11
C. Características	11
1. <i>Hinchamiento</i>	12
2. <i>Sinéresis</i>	12
3. <i>Estructura</i>	12
4. <i>Reología</i>	13
D. Estabilidad	14
II. CREMAS	15
A. Termodinámica	15
B. Componentes de las Emulsiones	15
1. <i>Fases Inmiscibles</i>	16
2. <i>Emulsificantes / Estabilizantes de Emulsiones</i>	16
i. <i>Emulsificantes</i>	16
ii. <i>Clasificación de Emulsificantes</i>	16
iii. <i>Estabilizantes de Emulsiones</i>	17
3. <i>Conservadores y Antioxidantes</i>	18
i. <i>Conservadores</i>	18
ii. <i>Antioxidantes</i>	18
C. Estabilidad de Emulsiones	18
1. <i>Viscosidad</i>	19
2. <i>Barrera Energética</i>	19
3. <i>Pruebas de Estabilidad</i>	20
D. Proceso de Manufactura	20
III. MICROEMULSIONES	22
A. Componentes de Microemulsiones	22
B. Optimización de Microemulsiones	22
C. Estabilidad	23
D. Fabricación	23
IV. LIPOSOMAS	24
A. Clasificación	25
B. Componentes de las Formulaciones	25
C. Caracterización de Liposomas	26
D. Estabilidad Liposomas	26
1. <i>Estudios de Temperatura</i>	26
2. <i>Estabilización de Liposomas</i>	26
E. Proceso de Fabricación	27
F. Interacción de Liposomas con las Células	28
CRITERIOS DE FORMULACIÓN	29
I. PERFIL DE TEXTURA	29
II. PROCESO	30
III. ESTABILIDAD	31
IV. DESEMPEÑO BIOLÓGICO	31

A. Piel	32
1. <i>Funciones de la Piel</i>	32
2. <i>Anatomía de la Piel</i>	33
i. Epidermis	33
ii. Dermis	34
iii. Hipodermis	34
3. <i>Estructura y Propiedades de Barrera del SC</i>	35
B. Rutas de Permeación de Fármacos	37
1. <i>Vía Transapendices</i>	37
2. <i>Vía Transepidermal</i>	37
C. Factores que Influencian la Absorción Cutánea	38
1. Factores Biológicos	38
i. <i>Condición de la Piel</i>	38
ii. <i>Género y Raza</i>	38
iii. <i>Sitio Anatómico</i>	38
iv. <i>Edad</i>	38
v. <i>Flujo Sanguíneo</i>	38
2. FACTORES ASOCIADOS A LA FORMULACIÓN	39
i. Propiedades Físicoquímicas del Principio Activo	39
a. <i>Peso Molecular</i>	39
b. <i>Coefficiente de Partición</i>	39
c. <i>Polaridad y Carga</i>	39
d. <i>Solubilidad</i>	39
e. <i>Dosis Aplicada y Superficie</i>	40
f. <i>Tiempo y Frecuencia de Aplicación</i>	40
II. COMPONENTES DEL VEHÍCULO	40
a. <i>Promotores de la Penetración</i>	40
a.1. <i>Agua</i>	42
b.1. <i>Sulfóxidos</i>	43
c.1. <i>Surfactantes</i>	44
d.1. <i>Terpenos</i>	45
e.1. <i>Alcoholes</i>	45
f.1. <i>Ciclodextrinas</i>	46
g.1. <i>Propilenglicol</i>	46
h.1. <i>Ácidos Grasos</i>	47
i.1. <i>Azona</i>	47
b. <i>Retardadores de la Penetración</i>	48
c. <i>Vehículos</i>	48
c.1. <i>Liposomas</i>	48
c.2. <i>Emulsiones, Microemulsiones, Geles</i>	49
EVALUACIÓN DE LA LIBERACIÓN, PENETRACIÓN Y PERMEACIÓN IN VITRO A TRAVÉS DE LA PIEL	50
A. Celdas de Difusión	50
1. <i>Celdas de difusión horizontales</i>	51
2. <i>Celdas de difusión verticales</i>	52
B. Prueba de Liberación	53
1. <i>Compartimiento receptor</i>	53
2. <i>Membrana</i>	54
3. <i>Tiempo de Muestreo</i>	54
4. <i>Tratamiento de Datos</i>	54
C. Prueba de Permeación	54
1. <i>Elección de piel</i>	54
2. <i>Preparación de piel</i>	55
3. <i>Almacenamiento de la piel</i>	55
4. <i>Compartimiento receptor</i>	55
5. <i>Muestreo del receptor</i>	55

a. Muestreo con Alicuota	55
b. Muestreo Continuo	56
D. Membranas Limitantes	56
MATERIALES Y EQUIPOS	57
MATERIAS PRIMAS Y REACTIVOS	58
METODOS	59
A. PLAN GENERAL DE ACTIVIDADES	59
B. PREFORMULACIÓN	60
a) <i>Compatibilidad Fármaco Excipiente</i>	60
b) <i>Solubilidad</i>	60
C. FORMULACIÓN Y ESTABILIDAD	61
a) <i>Emulsión</i>	61
b) <i>Microemulsión</i>	61
c) <i>Geles</i>	62
d) <i>Liposomas</i>	63
D. CELDA DE FRANZ	64
a) <i>Caracterización de Celda de Franz</i>	64
E. PRUEBAS DE LIBERACIÓN	65
a) <i>Preparación de Medio Receptor</i>	65
b) <i>Preparación de Membranas</i>	65
c) <i>Preparación de la Muestra</i>	65
d) <i>Actividades Relacionadas con la Celda de Franz</i>	65
e) <i>Muestreo</i>	65
f) <i>Cuantificación</i>	65
g) <i>Tratamiento de Datos</i>	65
F. PRUEBAS DE PERMEACIÓN CON MEMBRANAS LIMITANTES	67
a) <i>Preparación de Medio Receptor</i>	67
b) <i>Preparación de Membranas</i>	67
c) <i>Preparación de la Muestra</i>	67
d) <i>Actividades Relacionadas con la Celda de Franz</i>	67
e) <i>Muestreo</i>	67
f) <i>Cuantificación</i>	67
g) <i>Tratamiento de Datos</i>	67
G. PRUEBAS DE PERMEACIÓN EN PIEL DE CERDO	69
a) <i>Preparación de Epidermis y Piel Entera</i>	69
b) <i>Preparación de Medio Receptor</i>	69
c) <i>Preparación de la Muestra</i>	69
d) <i>Actividades Relacionadas con la Celda de Franz</i>	69
e) <i>Muestreo</i>	69
f) <i>Cuantificación</i>	69
g) <i>Tratamiento de Datos</i>	70
H. PRUEBAS DE PERMEACIÓN EN PIEL HUMANA	71
a) <i>Preparación de Piel Entera</i>	71
b) <i>Preparación de Medio Receptor</i>	71
c) <i>Preparación de la Muestra</i>	71
d) <i>Actividades Relacionadas con la Celda de Franz</i>	71
e) <i>Muestreo</i>	71
f) <i>Cuantificación</i>	71
g) <i>Tratamiento de Datos</i>	72
RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	73
A. ANALISIS DE FACTIBILIDAD	73
B. PREFORMULACIÓN, FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE ESTABILIDAD PRELIMINAR	74
<i>Excipiente</i>	74
<i>Temperatura</i>	74
<i>Disolvente</i>	75

a)	<i>Emulsión</i>	76
b)	<i>Microemulsiones</i>	77
c)	<i>Geles</i>	78
d)	<i>Liposomas</i>	82
C.	IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS DE LIBERACIÓN Y PERMEACIÓN	83
D.	OPTIMIZACIÓN DE PERMEACIÓN	94
CONCLUSIONES		105
BIBLIOGRAFÍA		106

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemorables, se han utilizado diferentes sustancias de orígenes diversos, con las cuales se pretendía un efecto farmacológico; sin embargo, hoy en día los fármacos son administrados en formas farmacéuticas, las cuales deben cumplir con ciertos estándares, para poder ser comercializadas.

El conocimiento del investigador farmacéutico para diseñar formas farmacéuticas no solo debe limitarse al conocimiento de las propiedades fisicoquímicas del principio activo y de la misma forma farmacéutica para conseguir un producto física, química y microbiológicamente estable durante su vida útil, sino también, al entendimiento de las propiedades fisiológicas del sitio de administración, lo cuál puede tener un efecto significativo en el desarrollo de una forma farmacéutica que se desea sea óptimamente biodisponible. Para diseñar un sistema dérmico es esencial entender los mecanismos a los cuales se encuentra sujeto un fármaco en la piel, así como el efecto que pueden tener los diferentes excipientes sobre la misma piel; la evaluación de la biodisponibilidad del fármaco, es esencial durante el desarrollo de una formulación, al permitir el diseño de un sistema que promueva la penetración del fármaco.

Los fármacos que son aplicados tópicamente, caen dentro de dos categorías, aquellos que pretenden una terapia sistémica y aquellos diseñados para ejercer un efecto local. En el último caso, el blanco puede ser la misma piel o tejidos adyacentes a la piel, como músculos y las cavidades sinoviales.

La administración tópica de fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, para su liberación directamente en el sitio inflamado y con dolor, es deseable, ya que se evita la irritación gástrica y se reducen los efectos sistémicos adversos. Considerando que los procesos inflamatorios que cursan con dolor producidos por traumatismos deportivos y accidentales en tendones, ligamentos y articulaciones, etc., ocurren localmente y en tejidos adyacentes a la superficie de la piel, la administración de un fármaco anti-inflamatorio no esterooidal, directamente en el sitio afectado a través de un sistema semisólido es de interés. Sin embargo, las propiedades de barrera que posee la piel intacta, limita la permeabilidad de una amplia variedad de sustancias, incluyendo los agentes terapéuticos, por lo que la eficacia de los fármacos tópicamente aplicados, es frecuentemente limitada por su pobre penetración en la piel. Es así que se cuentan con diferentes métodos para mejorar la absorción percutánea, como el uso de promotores químicos de la penetración o el

empleo de novedosos vehículos como son las microemulsiones, sistemas de liberación basados en liposomas, etc.

De tal manera que a través del siguiente trabajo se desarrollaron diferentes sistemas dispersos para lo cuál se realizaron las respectivas pruebas de preformulación y formulación, posteriormente se llevó acabo, el diseño de las metodologías concernientes a las pruebas de liberación y permeación, las cuales tuvieron como fin, la evaluación del efecto de diferentes excipientes sobre la biodisponibilidad del fármaco, tratándose de mejorar la permeación del principio activo a través de la piel, con respecto al producto de referencia.

OBJETIVOS

Objetivos Generales

- Mostrar la importancia que tiene, el evaluar la liberación y permeación de un fármaco a través de la piel, durante el desarrollo farmacéutico de un producto de uso tópico.
- Obtener un sistema disperso como forma farmacéutica de dosificación, en la cuál se incluya un fármaco anti- inflamatorio no esterooidal, y que presente una permeación mejorada con respecto al producto de referencia a través de la piel humana, y que posea ciertos atributos inherentes a una formulación como estabilidad, y aceptabilidad por el paciente.

Objetivos Particulares

- i. Realizar estudios de preformulación que permitan caracterizar al principio activo
- ii. Evaluar el efecto de diferentes compuestos, denominados como promotores de la penetración, sobre la permeación del principio activo,
- iii. Evaluar la estabilidad física de los sistemas dispersos desarrollados
- iv. Realizar la caracterización de las celdas de Franz
- v. Elegir el mejor medio receptor que permita mantener las condiciones sink durante las pruebas de liberación y de permeación
- vi. Evaluar la liberación del principio activo de diferentes sistemas de dosificación
- vii. Determinar si la prueba de la liberación es una opción como prueba de control de calidad
- viii. Evaluar la permeación del principio activo, utilizando membranas limitantes

- ix. Evaluar la permeación del principio activo, utilizando membranas limitantes, piel de cerdo y piel humana
- x. Evaluar el efecto de la concentración de un promotor en una fórmula, en la permeación del principio activo
- xi. Determinar cuál es el mejor modelo para evaluar la permeación del principio activo, en lugar de la piel humana
- xii. Evaluar la reproducibilidad de los resultados de liberación y permeación en pruebas independientes

HIPOTESIS

La inclusión de diferentes excipientes durante el desarrollo de una fórmula en particular mejorarán la permeación del principio activo a través de la piel.

MARCO TEORICO

FORMAS FARMACEUTICAS DE DOSIFICACIÓN: SISTEMAS DISPERSOS

Los sistemas dispersos han sido descritos como sistemas en los cuales un compuesto, la fase dispersa, esta distribuida a través de otro compuesto, la fase continua o vehículo. Las formas farmacéuticas que pueden ser consideradas como sistemas dispersos son las emulsiones, microemulsiones, ungüentos, suspensiones, geles, pastas, aerosoles, y liposomas. Estas formas de dosificación pueden tener un comportamiento intermedio entre la fase sólida y líquida por lo generalmente son denominados como sistemas semisólidos.

Debido a su comportamiento reológico, los semisólidos se adhieren a la superficie aplicada por largos periodos de tiempo, antes de que ellos sean retirados, por lo que se prolonga la liberación del fármaco en el sitio de aplicación, de tal manera que son empleados como vehículos de fármacos que se pretende que sean liberados tópicamente, ya sea por la piel, cornea, tejido rectal, mucosa nasal, vagina, tejido bucal, membrana uretral y oído [1,2].

Las formas farmacéuticas semisólidas han sido tradicionalmente utilizadas para obtener una liberación localizada del fármaco, sin embargo en los últimos años, han sido exploradas como alternativa para la liberación sistémica de los fármacos [1].

I. GELES

Los geles, son definidos como sistemas semisólidos consistentes de suspensiones hechas de pequeñas partículas inorgánicas o grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido [3]; también son definidos como una preparación semisólida, que contiene el o los principios activos y aditivos, sólidos en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite, de tal manera que se forma una red de partículas atrapadas en la fase líquida [4], así como líquidos gelificados por adecuados agentes gelificantes [5].

A. Clasificación

Los geles pueden ser clasificados como sistemas de una o dos fases. Cuando el gel consiste de floculos de pequeñas moléculas como las encontradas en el hidróxido de aluminio gel, o en la bentonita, se considera que el gel es un sistema de dos fases ya que hay fronteras definidas entre la fase dispersa y la fase continua. Por otro lado, un gel puede consistir de macromoléculas, como la goma tragacanto y la

carboximetilcelulosa, estos geles son considerados como sistemas de una fase una vez que no hay fronteras definidas entre la fase continua y la fase dispersa. [20]

Así mismo estos sistemas también pueden ser clasificados tomando en cuenta la naturaleza de la fase coloidal o la fase continua, como a continuación se describe (ver Figura 1) [6].

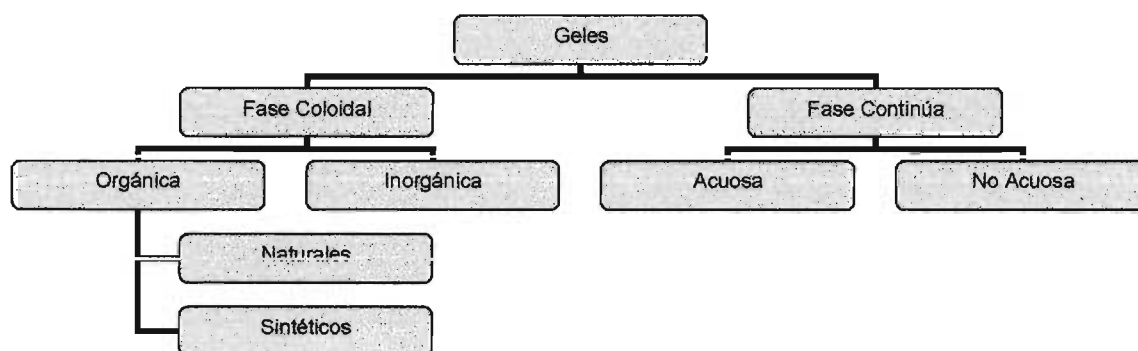


Figura 1. Clasificación de geles, tomando en cuenta la naturaleza de la fase continúa o dispersa [6].

B. Difusión de Fármacos

La velocidad de difusión de los fármacos en un gel depende de la estructura física de la red polimérica y de su naturaleza química [20]. La liberación de un fármaco a través de un gel, es controlado por la difusión del soluto a través de los poros del polímero. [20,25]. El entrecruzamiento incrementa la hidrofobicidad de un gel y disminuye la velocidad de difusión de un fármaco. La liberación de un fármaco (F) de un gel en el tiempo (t) puede ser expresado en general como

$$F = M_t / M_0 = k t^n$$

Donde M_t es la cantidad liberada en el tiempo t, M_0 es la cantidad inicial de fármaco, k es la constante de velocidad, y n es el llamado exponente difusional [20].

C. Características

Los geles presentan ciertas características particulares como son, el hinchamiento y la sinéresis, las cuales se describen a continuación.

1. Hinchamiento

Es la absorción del medio dispersor por el gel, lo que conlleva a un incremento en el volumen de la fase dispersa (ver Figura 2). Solamente aquellos solventes que son capaces de solvatar la fase coloidal provocan el hinchamiento del gel.

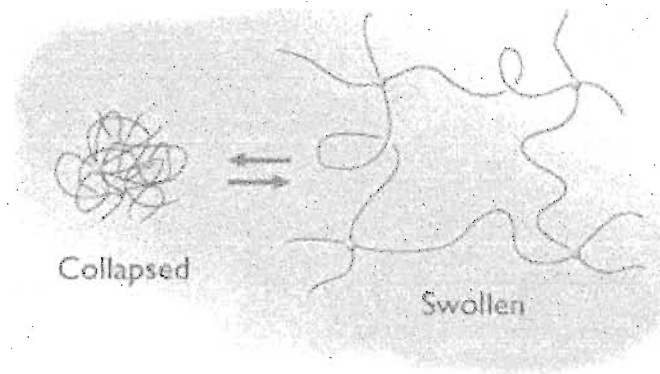


Figura 2. Fenómeno de hinchamiento [76]

2. Sinéresis

Fenómeno resultado de la contracción permanente de las partículas de la fase dispersa lo que conlleva a la liberación del medio dispersante. El mecanismo de contracción, se ha relacionado con la liberación de un stress elástico, ocasionado por el hinchamiento. Conforme el stress se libera, el espacio intersticial disponible para la fase continua, se reduce [6, 7, 20].

3. Estructura

Los geles son capaces de restringir el movimiento de la fase continua, como consecuencia de la interrelación de las partículas o por solvatación de las macromoléculas de la fase dispersa, para formar una estructura tridimensional (ver Figura 3). Un alto grado de entrecruzamiento físico o químico puede estar involucrado (ver Figura 4), incrementándose la interacción entre las cadenas poliméricas.

Polymer network

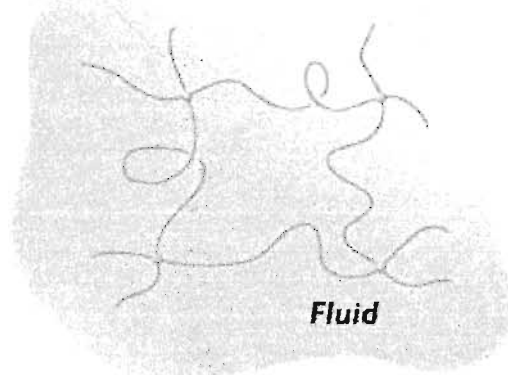


Figura 3. Estructura Tridimensional de una Red Polimérica [76]

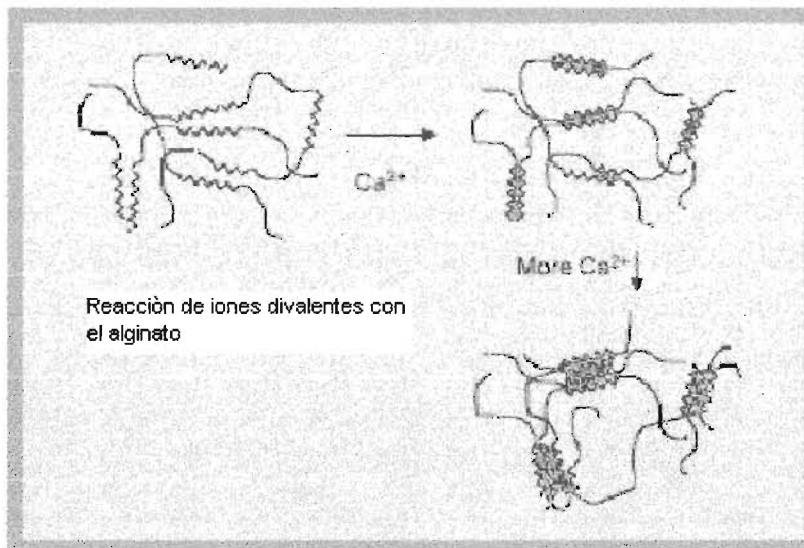


Figura 4. Entrecruzamiento químico para el alginato [76]

4. Reología

Los geles presentan una reología típicamente pseudoplástica que se caracteriza por una disminución de la viscosidad conforme aumenta la velocidad de corte. Tal comportamiento es el resultado del rompimiento progresivo de la estructura que conforma al sistema, para el caso de partículas inorgánicas, mientras que para las macromoléculas dispersas en un solvente, la velocidad de corte aplicada tiende

alinearse y a extender las moléculas en dirección del flujo, disminuyendo la viscosidad [6].

D. Estabilidad

Los cambios de viscosidad de un gel, sobre un periodo de tiempo son causa de preocupación, debido a la función del gel, dentro de un sistema en particular. De tal manera que varios factores pueden ser responsables de los cambios de viscosidad observados sobre el tiempo. Algunos son debidos a las interacciones del agente viscosante con algún excipiente presente en la formulación o como consecuencia de una alteración del propio agente viscosante. El procesamiento de un gel bajo altas fuerzas de corte o la degradación del derivado de celulosa, puede provocar una reducción en el peso molecular del polímero, lo que conlleva a una reducción de la viscosidad.

Los cambios químicos, en los sistemas, que provoquen cambios en el pH o que generen productos iónicos también pueden afectar la viscosidad.

Las elevadas temperaturas de almacenamiento pueden tener un efecto adverso en la estabilidad de algunos polímeros que podrían resultar en cambios de viscosidad [6].

II. CREMAS

Las cremas son formas farmacéuticas semisólidas que contienen uno o más fármacos disueltos o dispersos en una base conveniente. Este término ha sido tradicionalmente aplicado a semisólidos que poseen una relativa consistencia fluida, formulada como emulsiones agua en aceite o aceite en agua. Sin embargo, recientemente el término ha sido restringido a productos consistentes de emulsiones aceite en agua [3], las cremas también son definidas como preparaciones líquidas o semisólidas que contienen el o los principios activos y aditivos necesarios para obtener una emulsión, generalmente aceite en agua, con un contenido de agua superior al 20 % [4], así mismo como preparaciones multifase, consistentes de una fase lipofílica y una fase acuosa [5].

A. Termodinámica

Un sistema al estado inicial, constituido por fases separadas: aceite y agua, al ser agitado mecánicamente producirán una emulsión W/O, o O/W, y cualquiera de estos dos sistemas tendrán una energía libre "G", tal que:

$$\Delta G = \Delta U - T \Delta S$$

Donde U es la energía interna, T es la temperatura, S es la entropía del sistema.

Haciendo las aproximaciones correspondientes y al analizar la variación de la energía interna de cada una de las dos fases, así como la variación de la entropía, la cual es proporcional al número de gotas de la emulsión encontramos que:

$$\Delta U = \gamma * \Delta A$$

Donde γ es tensión interfacial y A es el área total de la interfase. La gran tensión interfacial entre 2 líquidos inmiscibles, aunado a una gran área interfacial, conlleva a que el sistema tenga una energía de Gibbs alta en comparación con la de las fases por separado, de tal manera que este, es un sistema termodinámicamente inestable, que tiende a revertirse al sistema original en dos fases, con la mínima área interfacial.

B. Componentes de las Emulsiones

Una amplia variedad de ingredientes naturales y sintéticos se emplean en la formulación de una emulsión.

1. Fases Inmiscibles

La Tabla 1 presenta una lista de las fases inmiscibles, que pueden conformar una emulsión [13].

Ingredientes Polares	Ingredientes No polares
Butilenglicol	Esteres
Glicerina	Grasas
Polietilenglicoles	Lanolina
Propilenglicol	Sintéticos (miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, glicerol monoestearato)
	Aceites vegetales
	Ácidos Grasos
	Alcoholes Ácidos
	Hidrocarbonos
	Butano, Propano
	Aceite mineral
	Petrolatum

Tabla 1. Algunos Componentes de las Fases Inmiscibles [13].

2. Emulsificantes / Estabilizantes de Emulsiones

i. Emulsificantes

Los emulsificantes son moléculas con una cadena hidrocarbonada no polar, y una cabeza con naturaleza hidrofílica. Como resultado de su estructura son atraídos tanto por la fase acuosa, como por la fase lipofílica de tal manera que son absorbidos en la interfase del glóbulo, formando una película monomolecular alrededor de este, lo que conlleva a una reducción de la tensión interfacial [6], y de la energía libre en el sistema lo que por ende reduce la tendencia a la inestabilidad. Un efecto adicional de promover la estabilidad es a través de la presencia de carga de superficie, la cual causa una repulsión de partículas adyacentes.

ii. Clasificación de Emulsificantes

La naturaleza del grupo hidrofílico (cabeza) provee la más útil, manera de clasificar a los surfactantes químicamente:

- a. Si la molécula del surfactante no esta ionizada, el *surfactante* es clasificado como *no iónico*

- b. Si la molécula del *surfactante* posee una carga negativa, cuando se dispersa en agua se clasifica como *aniónico*
- c. Si el *surfactante* se puede ionizar para producir un ión positivo, el *surfactante* es clasificado como *cationico*
- d. El último grupo de *surfactantes* incluye aquellos que poseen ambas cargas (positivas y negativas). De tal manera que aquellos *surfactantes* en los cuales, dentro de un rango de pH, residen tanto cargas positivas y negativas en la misma molécula, se denominan como *zwitterionicos*. En otras circunstancias, el uso del termino *anfotérico* es mucho más aceptable, este termino claramente indica que en algunas condiciones de pH, la molécula puede tener una carga positiva, mientras que en otras puede tener una carga negativa [6].

A continuación se presenta en la Tabla 2, algunos ejemplos para cada tipo de *surfactantes*.

<i>Tipo</i>	<i>Ejemplos</i>
Aniónicos	Sulfatos alcohólicos éter
	Alquil sulfatos
	Sulfosuccinatos
Cationicos	Compuestos de cuaternarios de amonio
Zwitterionicos	Derivados de alquil betaínas
Amfotéricos	Sulfatos grasos aminados
	Derivados digrasos de trietanolamina
No iónicos	Alcoholes de lanolina
	Poloxámeros
	Polisorbatos
	Esteres de sorbitan

Tabla 2. Clasificación de *surfactantes* [13]

iii. Estabilizantes de Emulsiones

Un polímero puede ser adsorbido por la superficie de las gotas emulsificadas, de diferentes formas, formando una película multimolecular alrededor de las

gotas dispersas de una emulsión. La acción estabilizante de los coloides depende de la forma en la cuál se adsorba el coloide para prevenir que el potencial de Van der Waals, llegue a ser dominante. En la Tabla 3 se presentan algunos ejemplos de polímeros que son utilizados para estabilizar las emulsiones O/W o W/O [6].

Compuesto	Estabilizante para Emulsión Tipo	
	O/W	W/O
Carboximetilcelulosa		X
Metilhidroxietilcelulosa	X	
Hidroxipropilmetil celulosa éter	X	
Alcohol Polivinilo	X	X
Ácido Poliacrílico	X	

Tabla 3. Polímeros comercialmente disponibles [6].

3. Conservadores y Antioxidantes

i. Conservadores

Todas las emulsiones son susceptibles a la contaminación microbiana y a la degradación. Es importante tomar en cuenta que los conservadores pueden interactuar con algún componente de la formulación, involucrando fenómenos de complejación, partición, adsorción o precipitación, comprometiéndose su efectividad.

ii. Antioxidantes

La inclusión de un antioxidante en una emulsión puede ser necesaria no solo para proteger al principio activo, sino también para proteger a otros componentes (por ejemplo lípidos insaturados) [13].

C. Estabilidad de Emulsiones

Dado que las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y que por ende irremediablemente el sistema tenderá a separarse al sistema original de dos fases, es de vital importancia evaluar la estabilidad de dichos sistemas.

Cuando una emulsión empieza a separarse, típicamente una capa oleosa aparece en la parte superior, mientras que una capa acuosa aparece en la parte baja del sistema.

Esta separación es el estado final de una emulsión inestable. El primer paso de la desestabilización de una emulsión es la floculación, es decir cuando dos glóbulos están muy cerca uno del otro, de tal manera que aún están separados por una película de la fase continua, sin embargo los glóbulos se empiezan a agrupar en racimos, en ese momento los glóbulos aún siguen separados por una película delgada de la fase continua, en el paso final, la coalescencia ocurre, formándose un glóbulo de mayor tamaño, este proceso se caracteriza por tener una amplia distribución de tamaños de glóbulos, sin la presencia de glóbulos agrupados en racimos. Los glóbulos con un mayor diámetro experimentan una cremosidad o sedimentación mucho más rápida que los glóbulos pequeños originales; la velocidad de sedimentación es proporcional al cuadrado del radio.

$$v = \frac{2\Delta\rho r^2 g}{9\eta}$$

1. Viscosidad

La velocidad de floculación de una emulsión es inversamente proporcional a la viscosidad de la fase continua. El agente viscosante puede dar una pequeña rigidez a la fase continua, lo cuál puede ser suficiente para prevenir el movimiento de los glóbulos, ejerciendo una barrera protectora.

Sin embargo, cuando la viscosidad de la emulsión es muy pequeña, la estabilidad debe ser mejorada por la barrera energética entre los glóbulos.

2. Barrera Energética

La barrera energética entre los glóbulos, implica que ellos experimenten repulsión cuando se aproximan uno a otros. Cuando un surfactante iónico es adsorbido en la interfase del glóbulo, los contraiones del surfactante se separan de la superficie y forman una nube difusa que se extiende en la fase continua. Cuando los contraiones se empiezan a traslapar, una fuerza repulsiva resulta.

Un segundo tipo de barrera se crea de la acción de un polímero adsorbido en la interfase de un glóbulo. Si los constituyentes polares- no polares se encuentran bien balanceados alcanzando la fase continúa con sus lazos y extremos, estas partes en la fase continua requieren espacio para conseguir todas las posibles conformaciones, y dentro de este espacio no toleran la presencia de otra parte de una molécula polimérica adsorbida por otro glóbulo. Si un segundo glóbulo se

aproxima a una corta distancia, el polímero restringe su conformación, causando una fuerte fuerza de repulsión.

3. Pruebas de Estabilidad

La estabilidad de una emulsión puede ser evaluada de diferentes maneras. El método más fácil, es acelerando el número de colisiones al incrementar la temperatura de la muestra, sin embargo el calor reduce la acción protectora de los emulsificantes, se incrementa la solubilidad de los componentes, y cambia la doble capa eléctrica. Así mismo, la sedimentación puede ser acelerada por centrifugación, sin embargo la separación observada durante la sedimentación forzada por la centrifugación, podría no coincidir con lo observado en la práctica, por lo que los resultados obtenidos podrían ser completamente erróneos. Al parecer la mejor manera de evaluar la estabilidad de una emulsión es determinando la distribución de tamaño de glóbulo frecuentemente durante las primeras semanas del almacenamiento. Si no hay cambio en la distribución de tamaño de glóbulo, se puede esperar, que el producto sea estable, un incremento en el tamaño de los glóbulos es indicativo de que esa emulsión es inestable con el tiempo, y aunque se tenga una distribución con un intervalo cerrado, este resultado no es garantía de estabilidad [6].

D. Proceso de Manufactura

El método utilizado para incorporar las fases, la velocidad de adición, la temperatura de cada fase y la velocidad de enfriamiento después de mezclar ambas fases tienen un considerable efecto no solo en la viscosidad de la emulsión, sino también en la distribución del tamaño de glóbulo y en su estabilidad.

La práctica usual durante la preparación de una emulsión es adicionar la fase interna a la fase externa, mientras el sistema se encuentra bajo fuerzas de corte, para que la fase interna se disperse en la fase externa. Sin embargo algunos formuladores prefieren la técnica de inversión de fases, ya que esta técnica permite la formación de pequeños glóbulos, sin embargo la producción de lotes industriales es difícil como consecuencia del comportamiento reológico de la emulsión durante la fabricación.

También es frecuente que los componentes lipofílicos o hidrofílicos sean solubilizados en sus respectivas fases, y que estas sean calentadas antes de llevar a cabo el proceso de emulsificación. Las altas temperaturas son mantenidas cuando las fases

son combinadas. Después de que la emulsión es formada, la velocidad de enfriamiento es sumamente importante, ya que de esto depende la textura y consistencia de la emulsión [6].

III. MICROEMULSIONES

Las microemulsiones son dispersiones micelares [19] ya sea aceite en agua (O/W) o agua en aceite (W/O) [20], cuyo tamaño de glóbulo de la fase dispersa se encuentra entre 10-100nm [19, 21].

A. Componentes de Microemulsiones

Las microemulsiones son sistemas constituidos por una fase acuosa, una fase oleosa, un compuesto anfifílico en forma pura o en mezclas y un cosurfactante [21, 22]; los cuales forman soluciones líquidas, isotrópicas y termodinámicamente estables [19, 23]. La función del cosurfactante es reducir la tensión superficial a aproximadamente cero, permitiendo una emulsificación espontánea [20, 22]. Tanto las moléculas del surfactante como el cosurfactante, son adsorbidas en las partículas de la microemulsión, previniéndose la coalescencia [20]

B. Optimización de Microemulsiones

La construcción de diagramas de fases ternarios (ver Figura 5) hace fácil encontrar el rango de concentración de los componentes para la existencia de una microemulsión [21].

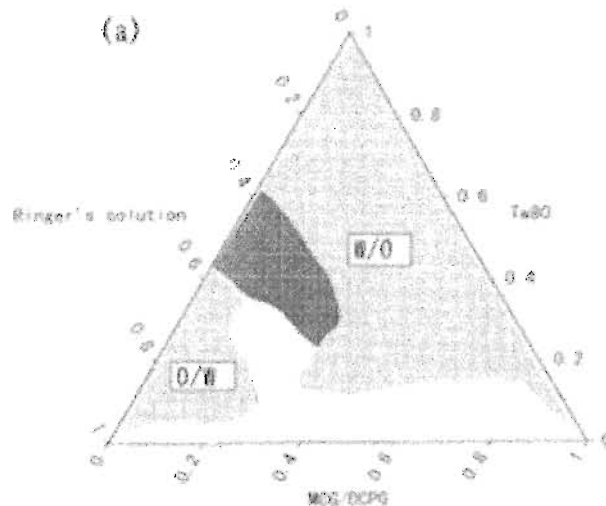


Figura 5. Diagrama de Fases en el cuál se distinguen las zonas para la formación de microemulsiones O/W o W/O [77].

Dentro de la región de obtención de una microemulsión, se pueden encontrar zonas de diferente viscosidad. La transición de una microemulsión fluida a una microemulsión tipo gel puede ser debida al cambio en la naturaleza y en la forma de la fase interna oleosa. Esto es un bajo contenido de agua en la fase interna consiste de estructuras esféricas, sin embargo cuando la concentración de agua es alta, la película interfacial se expande para formar una microemulsión tipo gel con estructuras cilíndricas. Como el contenido de agua es posteriormente incrementada, el sistema acuoso continuo de baja viscosidad con fases internas de estructuras esféricas es formado nuevamente [20].

C. Estabilidad

Los surfactantes no iónicos han mostrado ser sensibles a los cambios de temperatura. Por ejemplo, un incremento en la temperatura de una microemulsión *OW* la cuál fue preparada con un surfactante no iónico puede conducir a la transición de un sistema *W/O*, así mismo puede ocurrir una separación de fases, a temperaturas bajas [22].

D. Fabricación

Las microemulsiones son sistemas que se forman espontáneamente [13], de tal manera que pueden ser preparadas por el mezclado de los componentes juntos, permitiendo por último que la mezcla se equilibre al aplicar agitación [24]

IV. LIPOSOMAS

Los liposomas son vesículas (ver Figura 6) [7,8], similares a las membranas biológicas [8], las cuales pueden estar compuestas de uno o más lípidos formando una bicapa [7], englobando una parte del solvente circundante en su interior, [16] por lo tanto son capaces de transportar fármacos lipídicos o hidrofílicos [8]. Estas vesículas son reconocidas como sistemas de liberación de fármacos, que pueden mejorar la biodisponibilidad y la seguridad de los fármacos [17], de tal manera que algunos fármacos de uso tópico han sido encapsulados en ellos, con el objeto de incrementar su efectividad con la consiguiente disminución de la toxicidad sistémica, en el tratamiento de diferentes enfermedades [18].

La administración de fármacos a través de liposomas ha probado ser mejorada cuando se compara con sistemas convencionales como ungüentos, cremas, etc. Esto puede ser debido a la naturaleza lipofílica de los liposomas, resultando en una mejor absorción del fármaco.

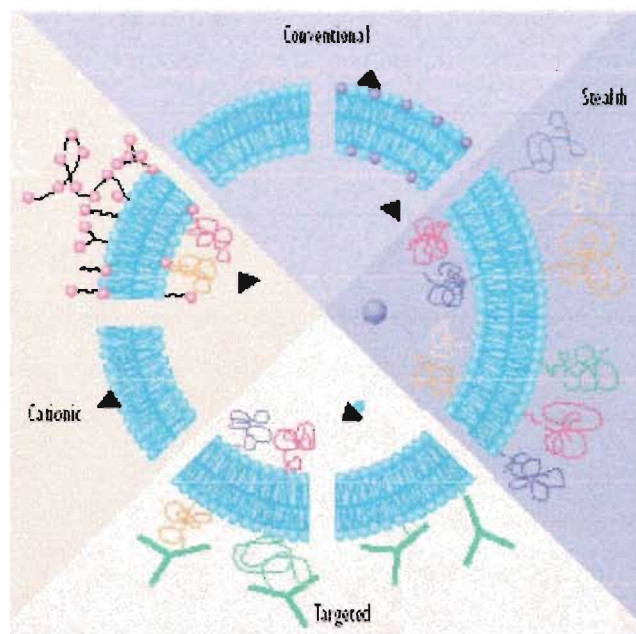


Figura 6. Los liposomas convencionales pueden ser neutros o estar negativamente cargados. Los liposomas estabilizados estericamente (stealth), tienen tiempos de circulación prolongados. Los inmunoliposomas pueden ser convencionales o stealth [16].

A. Clasificación

Los liposomas son clasificados por su tamaño y número de bicapas en tres tipos:

- ⊗ Vesículas Unilamelares, que consisten de una bicapa de fosfolípidos rodeando un espacio acuoso, son divididas en dos clases en base a su tamaño:
 - Pequeñas, SUV's (< 100 nm)
 - Grandes, LUV's (>100 nm)
- ⊗ Vesículas Multilamelares (MLV's), que consisten generalmente de 5 o más lamelas, y su tamaño varía de 100 nm a 1 µm.

El rango en el cuál un liposoma, es considerado grande o pequeño es muy subjetivo, habiendo diferencias entre autores.

B. Componentes de las Formulaciones

Los liposomas pueden ser preparados de una gran variedad de lípidos y mezclas de lípidos, siendo los más comúnmente utilizados, los fosfolípidos (ver Tabla 4) y los esteroides.

Tipo	Ejemplos
Aniónicos	Dipalmitoil Fosfatidilglicerol (DPPG)
	Dipalmitoil Fosfatidilcolina (DPPC)
	Dipalmitoil Ácido Fosfatídico (DPPA)
Neutros	Fosfatidilcolina (PC)
	Esfingomielina

Tabla 4. Fosfolípidos comúnmente utilizados para la preparación de liposomas [11].

La selección de los componentes de la bicapa lipídica se realiza tomando en cuenta aspectos de pureza, toxicidad, límites microbiológicos, y estabilidad. Los lípidos que son normalmente utilizados son las fosfatidilcolina, y la estearilamina, mientras que el colesterol es frecuentemente utilizado para estabilizar la bicapa [11,12, 13].

C. Caracterización de Liposomas

Además de la valoración del fármaco encapsulado, es importante caracterizar los liposomas que se obtienen en los siguientes aspectos: distribución de tamaño de partícula, lamelaridad y distribución del fármaco en el liposoma [8, 12]

D. Estabilidad Liposomas

La estabilidad física de los liposomas puede ser uno de los más grandes obstáculos para formular productos comercialmente disponibles.

Los posibles problemas de estabilidad incluyen pérdida del fármaco encapsulado, cambios en la estructura liposómica (distribución del tamaño de partícula y fusión), e inestabilidad química de los liposomas y del fármaco [11].

1. Estudios de Temperatura

Las altas temperaturas son universalmente usadas para evaluar la estabilidad de los sistemas farmacéuticos. Sin embargo, para los liposomas estas condiciones, pueden alterar dramáticamente las propiedades interfaciales, especialmente si la temperatura de transición es alcanzada. Los estudios realizados a tal temperatura, se pueden llevar a cabo para determinar cuanto tiempo el sistema puede durar, y si los cambios provocados son reversibles una vez que el sistema es almacenado nuevamente a 25 ° C [8].

2. Estabilización de Liposomas

Los lípidos, que conforman la doble capa lipídica, son susceptibles a experimentar reacciones de hidrólisis y oxidación. Sin embargo, el uso de lípidos de alta pureza, pueden minimizar la oxidación de los lípidos, al igual que el almacenamiento a bajas temperaturas y la protección de la luz y el oxígeno. La velocidad de hidrólisis de los lípidos es dependiente del pH, de tal manera que a un pH de 6.5 se tiene la mínima velocidad de hidrólisis, incrementándose a pH bajos y altos.

La estabilidad de una dispersión liposómica está influenciada por las interacciones inter - liposomas, la cuál depende del balance entre las fuerzas de repulsión y atracción. La repulsión estérica es usada frecuentemente para estabilizar liposomas [16].

E. Proceso de Fabricación

Las opciones para combinar la fase acuosa con la fase lipídica, son numerosas, sin embargo se tienen dos métodos principales, bajo los cuales se han hecho diferentes variaciones en cuanto al tipo de agitación o solventes a utilizar, para disolver la fase lipídica. El primero consiste en disolver los lípidos en un solvente orgánico, entonces el solvente orgánico es removido, posteriormente la fase lipídica es hidratada, seguido por una intensa agitación. El segundo método es la formación de una emulsión, bajo la cuál los lípidos son disueltos en un solvente orgánico, y entonces adicionada bajo control a la fase acuosa la cuál esta bajo agitación vigorosa (ver Figura 7). El solvente orgánico es entonces removido [8].

Es importante tomar en cuenta que el método de fabricación a utilizar para producir liposomas a nivel industrial, debe ser escalable, económico, y reproducible [17].

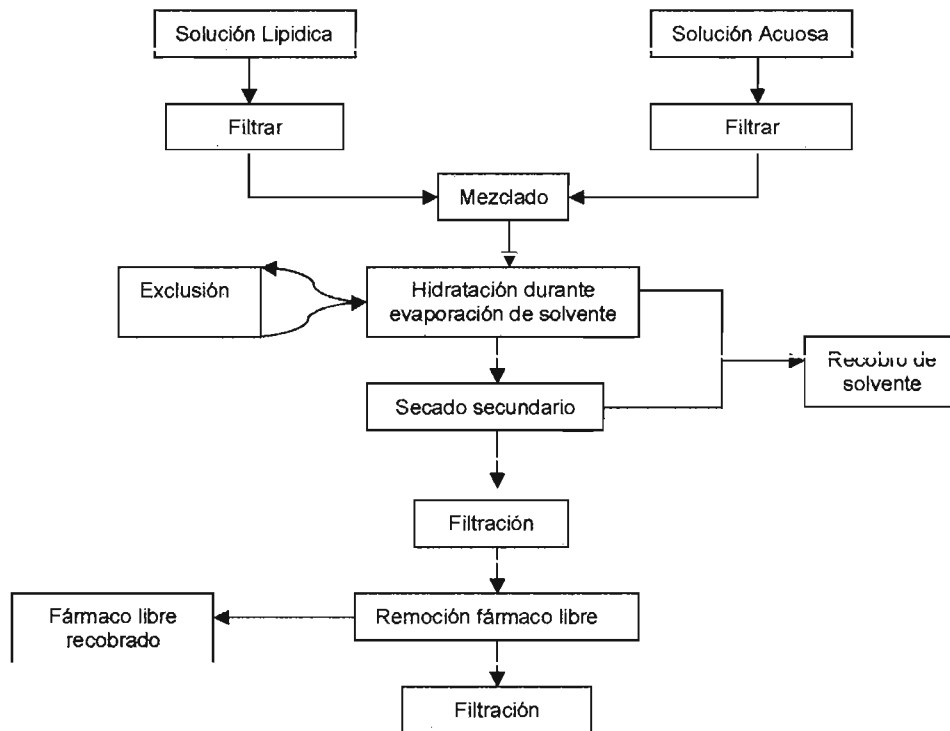


Figura 7. Proceso de Fabricación de Liposomas [17].

F. Interacción de Liposomas con las Células

La endocitosis parece ser el principal mecanismo de interacción entre los liposomas y las células. Sin embargo después de la endocitosis, los liposomas son degradados en los lisosomas por un proceso celular enzimático. Esta degradación es el principal obstáculo para la aplicación de los liposomas como sistemas de liberación de fármacos.

CRITERIOS DE FORMULACIÓN

I. PERFIL DE TEXTURA

Las formas farmacéuticas modernas son formuladas para ser presentadas a los pacientes como formulaciones atractivas a la vista, al gusto, al tacto y al olfato, ya que dependiendo de la forma farmacéutica en cuestión, una u otra característica es importante de considerar [7], al convertirse en una propiedad crítica para la factibilidad y éxito del producto [26], de ahí su importancia y evaluación durante el desarrollo de un producto. Sin embargo la inherente atracción de los medicamentos puede provocar envenenamientos accidentales en el hogar, particularmente entre niños quienes pueden ser atraídos por su apariencia organoléptica [7]. La preferencia de los consumidores por los productos semisólidos depende de sus propiedades, las cuales son conocidas en conjunto como perfil de textura, en las que se incluyen apariencia, olor, sensación inicial al contacto con la piel, propiedades de extensión, y sensación grasosa residual después de la aplicación; de tal manera que su aceptación requiere de óptimas propiedades mecánicas (facilidad de remoción del contenedor, extensión en la piel), propiedades reológicas (viscosidad, elasticidad, tixotropía), y propiedades de bioadhesión [27].

II. PROCESO

Son diversas las operaciones unitarias involucradas en la fabricación de formas farmacéuticas semisólidas [72, 73]. El investigador de desarrollo farmacéutico tiene que tomar en cuenta las características de la formulación con el fin de elegir el o los equipos más apropiados así como establecer las condiciones de operación [73].

En la Tabla 5 se presenta un breve compendio de las operaciones relacionadas en la manufactura de las formas farmacéuticas semisólidas

OPERACIÓN	FUNCIÓN	EJEMPLOS EQUIPOS
Mezclado	Reorientar partículas para lograr una uniformidad. Este proceso puede incluir la humectación de sólidos por un líquido, dispersión de partículas, o deaglomeración en una fase continua	Impulsores (de ancla, de hélice marina), y mezcladores de alto corte.
Emulsificación	Aplicar energía a un sistema líquido consistente de por lo menos 2 fases líquidas inmiscibles, causando que una fase se disperse en la otra	Emulsificadores de Alto Corte
De aireación	Eliminación de gases atrapados que permite realizar mediciones volumétricas adecuadas, así como remoción de gases potencialmente reactivos	Contenedores con vacío
Transferencia de Materiales	Movimiento controlado de materiales de una localización a otra	Centrífugo
Empaque	Liberación del peso o volumen total del producto terminado a los empaques primarios	Gravedad

Tabla 5. Operaciones Involucradas en la Fabricación de Sistemas Dispersos [72].

III. ESTABILIDAD

El término estabilidad farmacéutica, es utilizado para referirse, a la capacidad de un producto farmacéutico para permanecer dentro de especificaciones asegurando su potencia, identidad, calidad y pureza [74], durante su vida de anaquel [6].

El monitoreo de estabilidad puede realizarse con diferentes fines, dependiendo de la fase del desarrollo en la cual se encuentre el producto farmacéutico, como por ejemplo:

- ⊗ Estabilidad experimental, de los primeros lotes experimentales desarrollados, durante la etapa de formulación del desarrollo farmacéutico.
- ⊗ Estabilidad post-experimental, para establecer la fecha de expiración
- ⊗ Estabilidad de lotes de producción, como un monitoreo rutinario

Los aspectos que deben ser evaluados, como parte de un programa de estabilidad, para formas farmacéuticas de uso tópico son:

- ⊗ Apariencia
- ⊗ Claridad
- ⊗ Color
- ⊗ Homogeneidad
- ⊗ Olor
- ⊗ pH
- ⊗ Viscosidad
- ⊗ Distribución de Tamaño de Partícula
- ⊗ Resuspendibilidad
- ⊗ Potencia
- ⊗ Pérdida de Peso [74]
- ⊗ Intabilidad [2]

IV. DESEMPEÑO BIOLÓGICO

A. Piel

La permeación de un fármaco a través de la piel tiene dos vías potenciales, la difusión a través de la piel intacta y a través de los apéndices (folículos pilosos y glándulas sudoríparas) (ver Figura 11) [31, 33, 34].

El flujo global de un fármaco a través de la piel es la suma de los flujos individuales a través de cada vía [33].

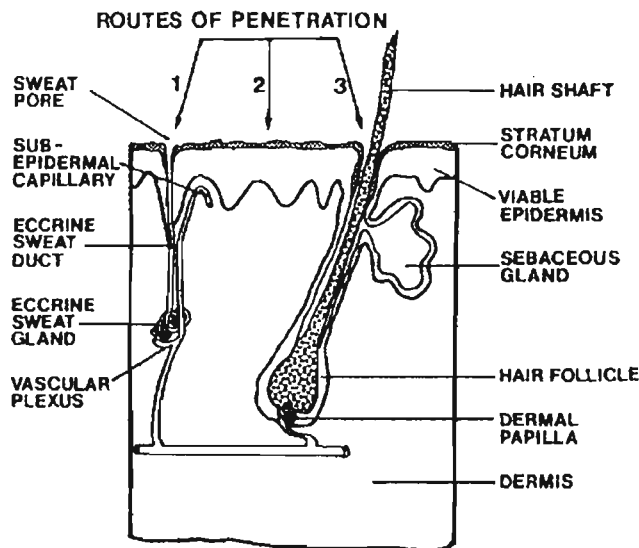


Figura 8 Rutas de permeación de fármacos a través de la piel: (1) vía a través de las glándulas sudoríparas, (2) a través de la piel intacta, (3) a través de los folículos pilosos [31].

1. Funciones de la Piel

La piel y sus derivados, que incluyen pelo, folículos pilosos, uñas, glándulas sudoríparas y sebáceas, recubren la parte externa de la superficie corporal [28-30]. La piel tiene varias funciones importantes, y en la Tabla 6 se presenta un breve compendio de su papel biológico [28-31].

Envoltura de fluidos y tejidos corporales
Protección contra agentes físicos, químicos y biológicos
Recepción de estímulos externos
Regulación de la temperatura corporal
Sintetizar y metabolizar compuestos
Eliminar compuestos químicos de desecho
Regular la presión sanguínea

Tabla 6. Principales funciones de la piel [31].

2. Anatomía de la Piel

La piel puede ser vista estructuralmente como una serie de capas, siendo las tres principales: la epidermis, la dermis y la hipodermis (ver Figura 8) [28-33].

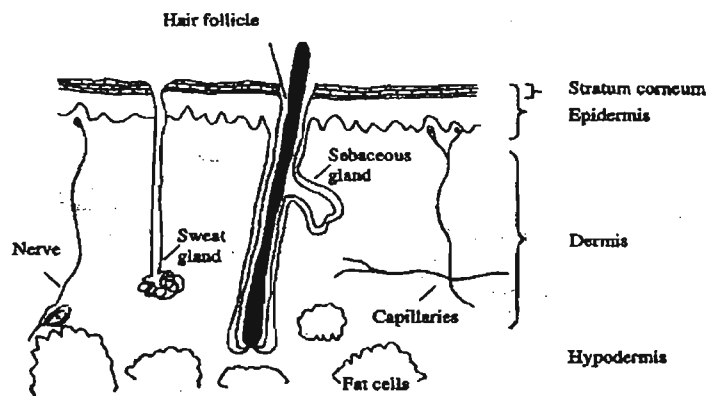


Figura 9. Estructura de la piel [34].

i. Epidermis

La epidermis es un epitelio plano estratificado [28-31] avascular [31,32], que consta de cuatro capas: estrato basal, estrato espinoso, estrato granuloso, y estrato comeo (SC), y en el caso de la piel gruesa se puede observar una quinta capa el estrato lúcido [28-31, 33] (ver Figura 9). La epidermis se encuentra formada por cuatro tipos distintos de células [28-31]:

1. Queratinocitos y Comeocitos
2. Melanocitos
3. Células de Langerhans
4. Células de Merkel

El tipo de células predominante son los queratinocitos, células epiteliales que se diferencian para producir queratina [29].

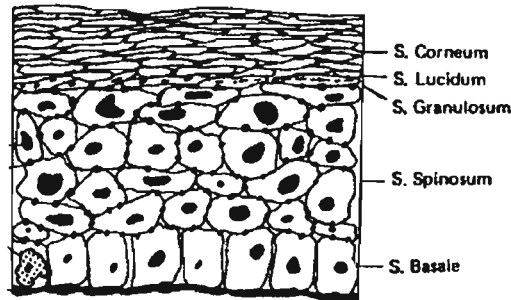


Figura 10. Representación esquemática de la epidermis [31].

Los comeocitos, células queratinizadas, se pierden continuamente de la superficie corporal y son sustituidas, por células que se originan de la mitosis, que experimentan las células basales, donde a medida que se lleva a cabo la división celular, las nuevas células se dirigen a la capa espinosa para continuar con su migración hasta la capa comea, donde por último se eliminan de la superficie de la piel [29-31]. Las células basales son metabólicamente activas y tienen los orgánulos típicos. Conforme las células se aproximan al SC, sufren un progresivo aplanamiento, elongación, acumulamiento de la queratina y pérdida de la actividad metabólica, por lo que las células del SC, son células muertas, anucleadas, y metabólicamente inactivas [31-34].

ii. Dermis

La dermis consiste esencialmente de una matriz de tejido conectivo celular, basado en colágeno, elastina y reticulina, las cuales se encuentran inmersas en una matriz de mucopolisacáridos. Los vasos sanguíneos, nervios cruzan esta matriz y los apéndices de la piel (folículos pilosos, glándulas sudoríparas y las unidades pilosebáceas) se originan en la dermis y se abren directamente sobre la superficie de la piel [31,32].

iii. Hipodermis

La hipodermis, el tejido conectivo subcutáneo, es un tejido más laxo que la dermis, que yace por debajo de esta. La hipodermis contiene cantidades

variables de tejido adiposo, variando de acuerdo a la edad, el sexo, y estatus nutricional del individuo. Esta capa es un vínculo flexible entre el tejido subyacente y las capas superficiales de la piel. El tejido subcutáneo es una barrera térmica y un amortiguador mecánico [28, 31].

3. Estructura y Propiedades de Barrera del SC

La función de barrera de la piel y la pobre penetración de los fármaco a través de ella es, principalmente atribuida al SC [31, 33, 34].

La capa más exterior, el SC esta integrado por 15 a 20 capas de células planas [31-33], completamente llenas de queratina [28-34], las cuales se encuentran embebidas en una matriz intercelular rica en lípidos [28, 30, 32, 34]. Los principales lípidos de esta matriz intercelular han sido caracterizados y se ha encontrado que la composición de los lípidos presentes en esta, difieren con los de la epidermis viable (Figura 10) [32]. Las propiedades de barrera del SC, están basadas en su composición y en el contenido específico de lípidos, y en particular, en la organización de la matriz lipídica extracelular y en la cubierta lipídica de los comeocitos [34]. La composición de lípidos en el SC son cerámidas, colesterol y ácidos grasos, junto con pequeñas cantidades de sulfato de colesterol, triglicéridos, escualeno, n -alcanos y fosfolípidos (ver Tabla 7).

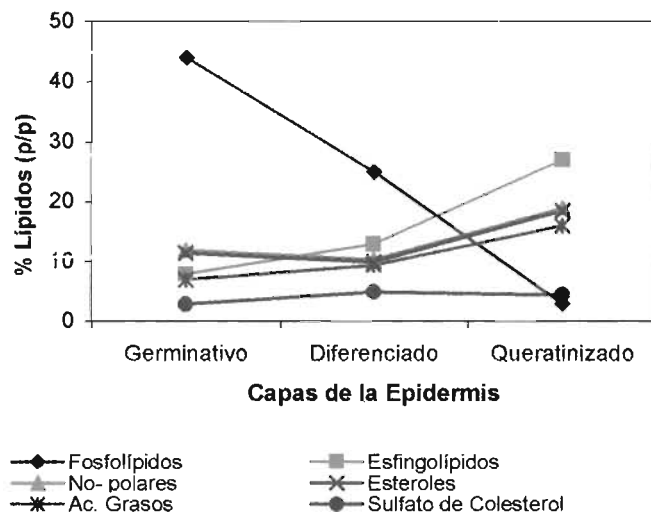


Figura 11. Composición lipídica de varias capas de la epidermis [32].

Constituyente	Especie y Región	
	Humano (Abdomen)	Humano (Plantar)
Cerámidas	18	35
Glucosilceramidas	Trazas	–
Ácidos Grasos	19	19
Colesterol	14	29
Sulfato de colesterol	1.5	1.8
Esteres de esteroles	5.4	6.5
Di- y Triglicéridos	25	3.5
Escualeno	4.8	0.2
n- Alcanos	6.1	1.7
Fosfolípidos	4.9	3.2

Tabla 7. Composición lipídica del SC, en porcentaje en peso [33].

Los lípidos del SC se encuentran principalmente localizados en el espacio intercelular con una pequeña cantidad en los comeocitos. Comparado con la cantidad de lípidos que existen en el espacio intercelular, solo algunas proteínas y enzimas se encuentran presentes en este último. Los lípidos intercelulares son vertidos al espacio intercelular por los cuerpos de Odland, los cuales se forman en la parte superior del estrato espinoso y en la parte baja del estrato granuloso. Cuando los cuerpos de Odland alcanzan la parte media y alta del estrato granuloso, los gránulos lamelares se agregan en la periferia del citoplasma; sus membranas se fusionan con la membrana plasmática y eventualmente vierten su contenido al espacio intercelular, este material se organiza posteriormente en multilamelas.

Los comeocitos tienen una cubierta proteínica, a la cuál se encuentra covalentemente unida una capa lipídica. La cubierta lipídica de los comeocitos principalmente comprende a la N- (hidroxiacil) esfingosina. Se ha postulado que la cubierta lipídica de los comeocitos resiste el paso del agua y de otras pequeñas moléculas polares al interior de los comeocitos, jugando un papel importante en la cohesión natural del SC, y actuando como una base para el depósito de los cuerpos lamelares [33].

B. Rutas de Permeación de Fármacos

1. Vía Transapendices

El área disponible para que un fármaco penetre a través de las glándulas sudoríparas y los folículos pilosos solo corresponde al 0.1 % del área total de la piel [31, 33, 34]. Sin embargo, a pesar de la pequeña fracción de área disponible, los apéndices de la piel pueden ser el principal portal de entrada a las capas inferiores de la epidermis para iones [33] y moléculas polares grandes [31,33].

El papel que tiene esta vía en el transporte de moléculas de peso molecular mediano, aun no se encuentra claro [33]. Así mismo, durante la absorción cutánea, de no electrolitos pequeños, el flujo durante la fase de latencia, es importante sin embargo transitorio; la contribución de esta vía al flujo total durante la fase estacionaria es insignificante [31,33].

2. Vía Transepidermal

Dos vías a través de la barrera intacta (SC), pueden ser identificadas (ver Figura 12): la ruta intercelular, en la cuál el fármaco difunde entre los comeocitos a través de la matriz lipidica intercelular y la ruta transcelular, en la cuál el fármaco cruza a través de los comeocitos, así como a través de la matriz lipidica intercelular [31,34]. Inherente a ambos procesos, la permeación transcelular de un fármaco, involucra una secuencia de fenómenos de partición, y difusión en el SC, epidermis viable y dermis [31,33].

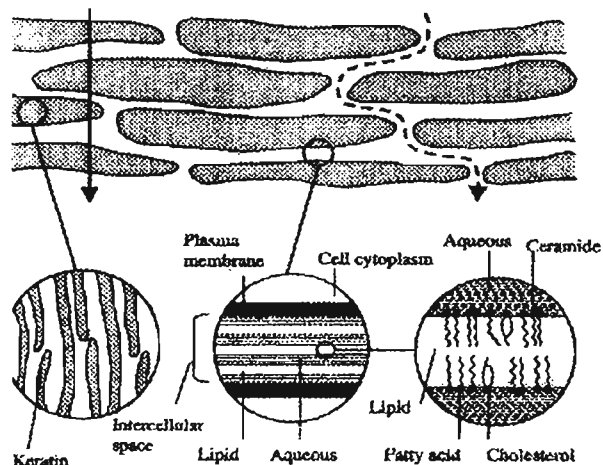


Figura 12. Rutas de penetración a través del SC intacto [34].

Son muchos los factores que influyen la absorción percutánea, entre los cuales encontramos:

C. Factores que Influencian la Absorción Cutánea

1. Factores Biológicos

i. Condición de la Piel

Los estados patológicos que se presentan en la piel [35,36], así como cualquier daño ocasionado en ella [2], en general disminuyen la barrera de permeabilidad aumentando la absorción.

ii. Género y Raza

No se han encontrado diferencias significativas en la absorción percutánea entre razas [35], así como tampoco entre la que presentan los hombres y mujeres [33,35]. Es importante comentar que los factores ambientales como la humedad y la temperatura, al incrementarse, disminuyen la barrera de permeabilidad, aumentando por ende la absorción [35,36].

iii. Sitio Anatómico

La absorción percutánea varía dependiendo del sitio del cuerpo, en el cual se aplique el fármaco. Las regiones más permeables son la postauricular, la frente y el escroto, disminuyendo en el abdomen y en la espalda [33, 35, 36].

iv. Edad

Los niños prematuros, presentan una mayor absorción como consecuencia de que no se ha formado totalmente el estrato [35,36]; sin embargo existen datos contradictorios acerca de las observaciones de permeabilidad en ancianos y en bebés [33, 35, 36].

v. Flujo Sanguíneo

Un incremento en el flujo sanguíneo, tiene como consecuencia un incremento en el aclaramiento y por ende una mayor absorción percutánea. [36]

2. Factores Asociados a la Formulación

i. Propiedades Físicoquímicas del Principio Activo

La difusión pasiva de un fármaco a través de la piel, velocidad y extensión con la cuál ocurre, se encuentra influenciada por sus propiedades físicoquímicas (peso molecular, coeficiente de partición, polaridad, pKa, y solubilidad).

a. *Peso Molecular*

Las moléculas más pequeñas se transportan a través de la piel más rápidamente que las moléculas más grandes, en un estrecho rango de peso molecular (200- 500), habiendo una pequeña correlación entre el tamaño y la velocidad de penetración [47, 48].

b. *Coefficiente de Partición*

Como consecuencia de que el principal mecanismo de penetración de fármacos, es a través de la vía intercelular, los fármacos deben tener una buena solubilidad en lípidos. Sin embargo, las capas inferiores al SC, son de naturaleza acuosa. Es así que los fármacos con un balance en su carácter lipofílico / hidrofílico, con un valor de log P en el rango de 2.0- 2.5, tienen la máxima permeabilidad [47-49].

c. *Polaridad y Carga*

Dado la considerable resistencia que ofrece el SC a la penetración de fármacos polares, es obvio que la piel es extremadamente impermeable a especies cargadas [47-49].

d. *Solubilidad*

Aunque el coeficiente de partición relaciona las solubilidades a saturación del fármaco en aceite y en agua. El porque, el coeficiente de partición es una relación de solubilidades, un log P de 2, puede ser mostrado por un fármaco el cuál es muy insoluble tanto en la fase acuosa como en la fase lipídica. Por lo que por consiguiente, tal compuesto penetrara a través de la piel

lentamente. Es así que el parámetro de solubilidad en un medio lipofílico, puede ser un indicativo de su solubilidad en el SC [49].

e. Dosis Aplicada y Superficie

La cantidad de fármaco que se absorbe a través de la piel, aumenta conforme se incrementa la concentración del fármaco en el vehículo, así como al aumentar la superficie de contacto [35,36].

f. Tiempo y Frecuencia de Aplicación

Al aumentar el tiempo de contacto del vehículo con la piel [35,36] y la frecuencia con la cuál se aplica este [35], se incrementa la absorción percutánea.

ii. Componentes del vehículo

a. Promotores de la Penetración

La composición de los vehículos tópicos afecta, tanto la extensión como la velocidad con la cuál los fármacos penetran la piel [40]. Es así que existe un grupo especial de compuestos, conocidos como promotores de la penetración, que facilitan la absorción a través de la piel, disminuyendo su impermeabilidad temporalmente [40, 44-46].

Idealmente los promotores de la penetración, deben reunir las siguientes características:

- ⊕ Farmacológicamente y químicamente inertes
- ⊕ Químicamente estables
- ⊕ No irritantes, no alergénicos y no fototóxicos
- ⊕ Efectos reversibles en las propiedades de la piel
- ⊕ Compatibles con el fármaco y excipientes
- ⊕ Incoloros, insípidos, carentes de olor, y cosméticamente aceptables [40, 44]

En la Tabla 8 se presenta un breve compendio de algunos compuestos que han sido usados como promotores de la penetración.

CLASE QUIMICA	EJEMPLOS
Sulfóxidos	Dimetilsulfóxido, decilmetilsulfóxido
Alcoholes	Etanol, propanol, etc. Alcohol de ácido graso: cetílico, caprílico, estearílico, oleico, etc.
Ácidos Grasos	Lineales: valérico, láurico, linoleico, mirístico, estearílico, oleico, etc. Ramificados: Isovalérico.
Esteres de ácidos grasos	Miristato de isopropilo, Palmitato de isopropilo, etc. Alquílicos: Acetato de etilo, acetato de butilo, acetato de metilo, metilvalerato, metilpropionato, oleato de etilo
Polioles	PG, PEG, etilenglicol, etc.
Amidas	Urea, derivados de Pirrolidonas, Amidas cíclicas, Dietanol amina, Trietanolamina, etc.
Surfactantes	Aniónicos: Lauril sulfato de sodio, laurato de sodio Cationicos: Cloruro de cetilpiridinium, cloruro de benzalconio, etc. No iónicos: Brij (30, 93, 96, 99), Tween (20, 40, 60, 80), Span (20, 40, 60, 80, 85)
Terpenos	D-Limoneno, α -pineno, mentol Aceites: ylang ylang, eucalipto.
Alcanos	N- heptano, N-octano, N-nonano, N-decano, N-undecano, N-dodecano, N-tridecano, N-tetradecano, N-hexanodecano
Ácidos Orgánicos	Ácido succínico, ácido cítrico, ácido salicílico, y salicilatos
Ciclodextrinas	Ciclodextrina

Tabla 8. Promotores de la Penetración [40]

Es evidente que muchos de estos promotores son sustancias que son ampliamente utilizadas en la industria farmacéutica, como excipientes en las formulaciones de uso tópico. Sin embargo, ellos pueden actuar de diferente manera, sobre la piel, alterando su impermeabilidad.

Los promotores pueden ejercer sus efectos por uno o más de los siguientes mecanismos:

- ⚡ Modificación de la estructura altamente ordenada de los lípidos intercelulares
- ⚡ Extracción de lípidos intercelulares
- ⚡ Interacción con las proteínas intercelulares

- ⊕ Incremento de la actividad termodinámica del soluto, en el vehículo
- ⊕ Incremento de la partición o solubilidad del fármaco en el SC (co- difusión fármaco promotor) [40, 44-46].

a.1. Agua

La hidratación de la piel trae consigo un incremento de la permeabilidad del SC, y aunque el mecanismo preciso por el cuál la absorción es mejorada, no es claro [39,40], se sabe que está provoca el hinchamiento de los corneocitos e incrementa la cantidad de agua asociada con los lípidos intercelulares [40], lo que incrementa la fluidez de los lípidos en la bicapa [44]. El efecto neto de la hidratación, es la reducción de las propiedades de barrera del SC. Sin embargo hay algunos fármacos cuya velocidad de penetración no se ve afectada por la hidratación de la piel o es menor [39, 40,44].

La oclusión de la superficie de la piel y los vehículos tópicos, reducen la pérdida de agua a la atmósfera, aumentando la hidratación de la piel. En la Tabla 9 se presenta un resumen del efecto de los vehículos sobre la hidratación de la piel [39,40].

Vehículos	Ejemplos/ Constituyentes	Efectos en la hidratación de la piel	Efectos en la permeabilidad
Parche Transdérmico	Capa Trasera Impermeable	Previene la pérdida de agua; completa hidratación	Marcado incremento
Base Lipofílica	Parafinas, grasas, ceras, etc.	Previene la pérdida de agua; puede producir completa hidratación.	Marcado incremento
Emulsión W/O	Cremas Oleosas	Retarda la pérdida de agua; eleva la hidratación	Incremento
Emulsión O/W	Cremas Acuosas	Puede donar agua; ligero incremento en la hidratación	Ligero incremento
Humectantes	Bases solubles en agua, gliceroles y glicoles	Puede retirar agua; disminución de la hidratación	Puede disminuir o actuar como promotor de la penetración

Tabla.9 Efecto de los vehículos en la hidratación de la piel y en la permeabilidad de la piel [39,40]

b.1. Sulfóxidos

Varias teorías han sido propuestas para explicar el mecanismo de acción del dimetilsulfóxido (DMSO) (ver Figura 13), sin embargo parece que su actividad promotora ocurre vía modificación de la organización de los lípidos intercelulares [40, 44, 51] lo que conlleva a una disminución de la resistencia a la fluidez, también se ha observado una progresiva modificación de la queratina, de α -hélice a lamina β - plegada, [46,51] y por incremento de la partición del fármaco en el SC.

El comportamiento del DMSO, es dependiente de su concentración, de tal manera que altas concentraciones (>60% en agua) son esenciales y estos efectos son mayores conforme se incrementa la concentración, en el vehículo. Sin embargo el DMSO es capaz de interactuar con las proteínas del SC a niveles tan bajos como 20 %.

Estas alteraciones en el SC limitan el uso del DMSO, en los sistemas de uso tópico y transdérmicos [40,44].

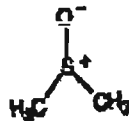


Figura 13. Forma polarizada del DMSO [40].

El decil- metil sulfóxido (ver Figura 14) puede alterar la permeabilidad de otras moléculas por la piel, induciendo modificaciones en la estructura de la membrana. En general el mecanismo por el cuál opera el decil- metil sulfóxido es similar al del DMSO [44].

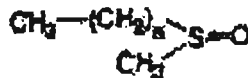


Figura 14. Alquil -DMSO [40].

c.1. Surfactantes

De los diferentes tipos de surfactantes cationicos, aniónicos y no iónicos, que se han estudiado, son estos últimos los que poseen un menor potencial para causar irritación en la piel en comparación a los cationicos y aniónicos [40,55], sin embargo son los que tienen la menor habilidad para promover la penetración cutánea [40].

El máximo flujo transmembranal de una molécula ocurre a bajas concentraciones de surfactante, sin embargo se ha observado que el incremento de la concentración, generalmente por encima de la concentración micelar crítica (CMC), disminuye el flujo a través de la piel. La reducción de velocidad de transporte del fármaco presente en el sistema surfactante, es atribuido a la habilidad del surfactante a formar micelas [40,56].

Surfactantes Aniónicos

Los surfactantes aniónicos causan un hinchamiento del SC y desnaturalización de proteínas. El grado de penetración a la piel depende de la estructura del surfactante y específicamente del largo de la cadena hidrocarbonada. Por ejemplo aquellos surfactantes con una cadena de 10 a 12 carbonos son los más efectivos.

Surfactantes Cationicos

Algunos de estos surfactantes como el bromuro de cetiltrimetil amonio, son muy irritantes, estos compuestos se unen más rápidamente a las proteínas de la epidermis, que el dodecil sulfato de sodio.

Surfactantes No Iónicos

El mecanismo de acción asociado a los surfactantes no iónicos parece estar relacionado con su habilidad de penetrar en el SC, e interaccionar con los lípidos intercelulares, incrementando la fluidez y disminuyendo la resistencia a la difusión. Así mismo se cree que otro posible modo de

acción involucra la penetración del surfactante e interacción y unión con los filamentos de queratina [45].

d.1. Terpenos

Los terpenos son constituyentes de los aceites esenciales que son los principios aromáticos volátiles encontrados principalmente en las flores, frutos, y raíces de las plantas [37-41].

Los terpenos son capaces de promover la permeabilidad de fármacos tanto de naturaleza hidrofílica [37-40] como lipofílica [38-40], a pesar de ser altamente lipofílicos y tener altos coeficientes de partición [38,40]. Aparentemente, los terpenos hidrocarbonados son más efectivos para fármacos lipofílicos y los terpenos que tienen oxígeno en su molécula son más efectivos para fármacos hidrofílicos [39,40]. Para fármacos hidrofílicos, el mecanismo de acción se encuentra relacionado fundamentalmente con la modificación de la estructura altamente ordenada de los lípidos intercelulares del SC, lo que por ende incrementa la difusión del fármaco [37-41], mientras que para fármacos lipofílicos, se observa que estos compuestos incrementan la difusión del fármaco [5], así como la partición de los fármacos a través de la piel [38,40].

e.1. Alcoholes

Los alcoholes han sido ampliamente usados, como promotores de la penetración, siendo el etanol probablemente el mejor caracterizado de los promotores, en términos de permeación, irritación y metabolismo cutáneo [40].

Diferentes mecanismos han sido propuestos para explicar la acción del etanol, de tal manera que se ha concluido que este es capaz de promover la solubilidad de fármacos lipofílicos en el SC [34,40], mientras que para mejorar la permeación de fármacos hidrofílicos, su mecanismo se encuentra relacionado con la extracción de lípidos del SC [34, 40, 44,46].

El flujo de un fármaco a través de la piel es superior al incorporar promotores no polares de cadena larga, junto a los alcoholes [40,44], ya que mientras los promotores polares atraviesan la piel, los promotores no polares son principalmente retenidos en el estrato córneo [40].

f.1. Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (ver Figura 15) son oligosacáridos cíclicos que se caracterizan por tener una cavidad central lipofílica y una superficie externa hidrofílica, son moléculas relativamente grandes, y bajo condiciones normales ellas son incapaces de penetrar la piel. Sin embargo son consideradas promotores de la penetración, ya que actúan como verdaderos acarreadores, al mantener las moléculas hidrofóbicas de fármaco en solución y al liberarlas en la superficie de la piel.

Un óptimo efecto promotor de estos compuestos se ha observado cuando las ciclodextrinas son usadas para solubilizar todo o casi todo el fármaco [40, 42, 43], así como cuando se combinan con promotores que actúan en la barrera de la piel [40].

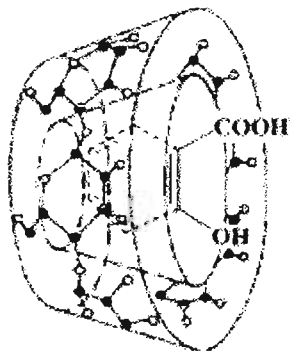


Figura 15. Esquema del complejo formado entre una ciclodextrinas y un principio activo [78].

g.1. Propilenglicol

El propilenglicol (PG), es capaz de fomentar la solubilidad de los fármacos en las capas más externas de la piel, lo que conlleva a mejorar el flujo del fármaco [46]. La capacidad de solubilidad de los sitios acuosos del SC son incrementados, lo que contribuye a favorecer la partición de los fármacos en la piel [40,46].

El PG es capaz de mejorar la permeabilidad de fármacos lipofílicos e hidrofílicos [40]. Además, tiene un marcado efecto sinergista cuando es aplicado junto con otros promotores de la penetración, como la Azona, o los ácidos grasos que son capaces de incrementar la fluidez de los lípidos [39,46].

h.1. Ácidos Grasos

Los ácidos grasos han mostrado ser ampliamente efectivos, como promotores de la penetración de fármacos hidrofílicos y lipofílicos.

La extensión de la permeabilidad es dependiente del vehículo utilizado, demostrándose que son más efectivos cuando el PG es utilizado como vehículo, y de la estructura del ácido graso utilizado [40]. De tal manera que los ácidos grasos saturados de C₁₀ y C₁₂ son los más efectivos [40, 54]. Los ácidos grasos de cadena corta se ha observado que afectan la estructura y propiedades de la piel en menor proporción que los ácidos grasos de cadena mediana.

La presencia de dobles ligaduras presentes en los ácidos grasos, así como las instauraciones *cis*, presentes en la molécula incrementan la permeabilidad de la piel.

Los ácidos grasos parecen incrementar la permeabilidad de la piel, como consecuencia del incremento de la fluidez o modificación de la estructura altamente ordenada de los lípidos del SC [40, 53].

i.1. Azona

La Azona (ver Figura 16) es un efectivo promotor de la penetración tanto de fármacos polares como no polares [40,44 ,52]. En la mayoría de los casos, la Azona es utilizada a concentraciones de 1 a 5%, y su actividad promotora es mejorada, por el uso de cosolventes como el PG [40,44].



Figura 16. Estructura Química de la Azona. [57].

Estudios clínicos han mostrado que la piel humana tolera exposiciones repetidas de este compuesto y la irritación tiende a ser asociada al uso de altas concentraciones de la Azona, así como con el uso de parches oclusivos en el sitio de aplicación [40], y su absorción percutánea es pobre [52].

Aunque el mecanismo de acción de la Azona aún se encuentra bajo investigación, se ha propuesto, que una interacción directa con los lípidos intercelulares, incrementa el grado de fluidez de las regiones hidrofóbicas de la estructura intercelular, disminuyendo la resistencia difusional de la piel [40,44]. La cadena alquímica de la Azona corresponde a las dimensiones del colesterol, lo que conlleva a la hipótesis de que la Azona modifica las interacciones ceramida- colesterol o colesterol- colesterol siendo un factor importante en la actividad promotora del compuesto [46].

b. Retardadores de la Penetración

Recientemente, se ha puesto un especial interés en ciertos agentes que pueden ser usados en formulaciones tópicas para prevenir el paso de principios activos o excipientes en las capas de la piel.

El análogo de la Azona, nombrado como N- 0915 (ver Figura 17) se ha demostrado que es un retardador, al igual que algunas iminosulfuronas [57].

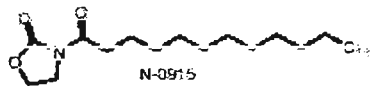


Figura 17. Estructura Química del Compuesto N- 0915 [57].

c. Vehículos

c.1. Liposomas

El uso de liposomas y fosfolípidos en la liberación percutánea, ha sido ampliamente estudiado, tales estudios muestran que la permeación de los fármacos es incrementada, así mismo se ha observado una acumulación de los fármacos en la piel. Los liposomas son capaces de difundir en el SC, las interacciones y efectos promotores de los liposomas están basados en la interacción de los fosfolípidos con los lípidos de la bicapa, observándose un incremento de la fluidez de estos últimos, lo que conlleva al aumento de la difusión de los fármacos, y al incremento de la partición del fármaco en el SC [79].

c.2. Emulsiones, Microemulsiones, Geles

Los componentes de los diferentes sistemas dispersos pueden actuar como promotores de la penetración, al reducir la barrera difusional del SC. Por ejemplo los cosurfactantes y surfactantes empleados para la obtención de las microemulsiones pueden ejercer un efecto promotor de la penetración del fármaco sobre la piel [21].

EVALUACIÓN DE LA LIBERACIÓN, PENETRACIÓN Y PERMEACIÓN IN VITRO A TRAVÉS DE LA PIEL

Innumerables métodos han sido diseñados en los últimos años, para estudiar la liberación, penetración y/o permeación de un fármaco in vitro. [58]. El propósito de estas pruebas, es predecir la liberación de una molécula hacia y a través de la piel [58, 62].

Cuando los fármacos son aplicados tópicamente, estos deben ser liberados de su vehículo a la superficie de la piel de tal manera que las moléculas estén disponibles para su penetración en el estrato corneo y las capas más internas de la piel [33, 34], para ejercer su efecto terapéutico [34] (ver Figura 18).

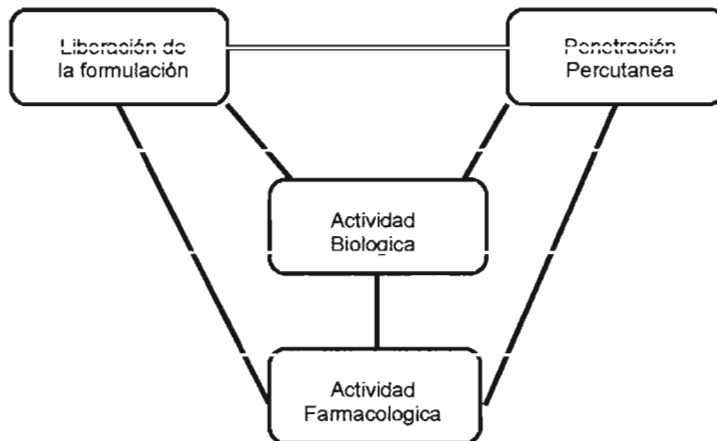


Figura 18. Pasos críticos necesarios para la actividad biológica de un medicamento aplicado tópicamente [49]

Los procesos de liberación [64] y permeación de fármacos in vitro, han sido ampliamente estudiados, usando celdas de difusión [34,64]. Mientras que el tape- stripping es una metodología que nos permite determinar la concentración de fármaco en el SC [34].

A. Celdas de Difusión

En general los experimentos de permeación y liberación in vitro se realizan en celdas de difusión, las cuales se pueden clasificar dentro de dos categorías generales [58,62]:

1. Celdas de difusión horizontales

Las celdas de difusión horizontales, usualmente comprenden dos cámaras, una de las cuales contiene la solución donadora y la otra contiene la solución receptora. Estas dos cámaras son separadas por una membrana. El contenido de una o de ambas cámaras es agitado para asegurar una adecuada dispersión de las moléculas del fármaco y minimizar las capas de difusión estacionarias. Las celdas horizontales exponen las membranas (piel) al solvente, por ambos lados, a lo largo del experimento, conduciéndonos a efectos potenciales de solvatación. Dentro de esta categoría tenemos el diseño de Wurster (ver Fig. 19), la celda de Valia- Chien (ver Fig. 20), etc [58].

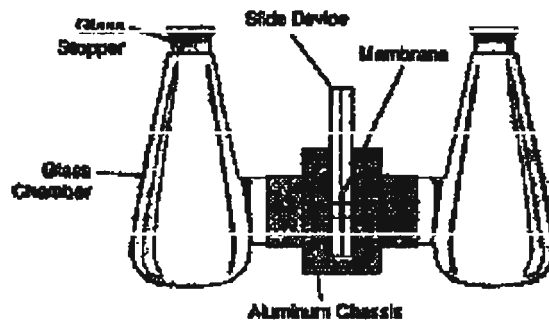


Figura 19. Celda de Wurster [58].

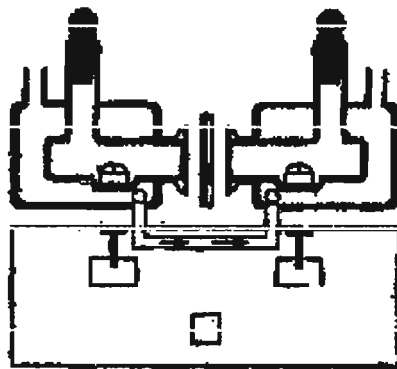


Figura 20. Celda de Valia- Chien [58].

2. Celdas de difusión verticales

Este tipo de celdas se asemejan más a las condiciones que encontramos in vivo, que son normalmente verticales, con una cámara inferior que contiene el fluido receptor, el cuál es agitado y/o reciclado para intentar mantener las condiciones sink a lo largo del experimento [58]. Una ventaja de las celdas verticales es la habilidad para variar la naturaleza del vehículo donador [33] y que permiten colocar en el donador cualquier tipo de formulación incluyendo parches [62]. Dentro de esta categoría tenemos la celda de Coldman [58] (Ver Fig. 21), la celda de Franz (Ver Figura 22), etc [33,58].

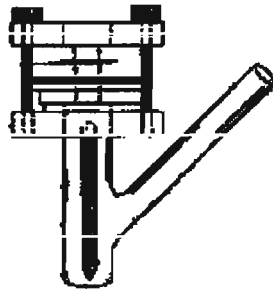


Figura 21. Celda de Coldman [58].

La celda de difusión de Franz es uno de los sistemas más ampliamente utilizados para realizar los estudios in Vitro de permeabilidad a través de la piel. Esta celda tiene un pequeño compartimiento donador y una cámara receptora (Ver Fig. 20). El fondo de la cámara se comunica con un tubo cilíndrico estrecho, el cuál se amplia en la parte superior de la cámara, cerca del área de contacto con la membrana. En el diseño original, la celda es estática y tiene un puerto de muestreo. La parte central de la cámara receptora esta enchaquetada para controlar la temperatura y el medio contenido en la cámara es agitado con una barra magnética cubierta con teflón.



Figura 22. Celda de Difusión de Franz [58].

Mientras la celda de Franz es ampliamente utilizada, esta tiene varias desventajas potenciales, la más notable es el pobre mezclado hidrodinámico.

Un sin número de modificaciones han sido introducido en el diseño original de Franz (Fig.23). Un segundo brazo fue adicionado, para permitir el flujo durante el proceso, el compartimiento donador fue sellado, así mismo se introdujo un sistema de agitación opcional y el diámetro del compartimento receptor puede tener diferentes dimensiones [33,58].

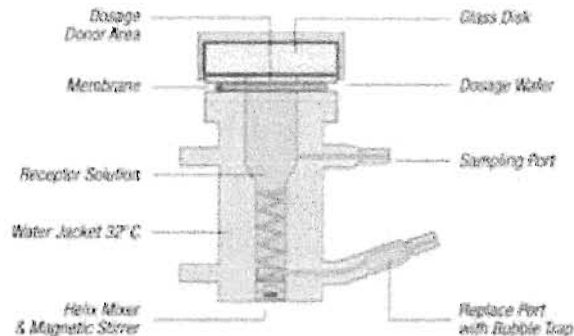


Figura 23. Celda de difusión de Franz modificada [75].

B. Prueba de Liberación

1. Compartimiento receptor

Aunque es deseable emplear un medio receptor que sea similar a las condiciones fisiológicas de la piel, es así mismo importante, asegurar la liberación del fármaco

en el medio [66]. El más importante factor para la selección del medio receptor es la solubilidad del activo [60, 63-66], de tal manera que el medio receptor apropiado puede ser una solución amortiguadora para fármacos solubles en agua, un medio hidroalcohólico para fármacos moderadamente solubles en agua o se pueden también utilizar soluciones acuosas de surfactantes. La de-aeración del medio es crítica para evitar la formación de burbujas en la interfase con la membrana [63,64].

2. Membrana

La membrana sintética seleccionada, debe ser un soporte inerte, sin embargo debe permitir la difusión del fármaco al medio receptor [60- 62, 65, 66]. La temperatura de prueba es 32 °C, la cuál refleja la temperatura usual de la piel [61- 66].

3. Tiempo de Muestreo

Un mínimo de seis muestras es recomendado para determinar la velocidad de liberación de un fármaco en un producto tópico. El tiempo de muestreo puede variar dependiendo de la formulación. Una alícuota del medio receptor es removida a cada intervalo del muestreo y remplazada por una alícuota de medio fresco, con el objeto de que la membrana permanezca en contacto con la fase receptora durante el periodo de tiempo experimental [60, 65].

4. Tratamiento de Datos

La liberación característica del fármaco del vehículo generalmente sigue el modelo de Higuchi [60, 61, 65, 66].

C. Prueba de Permeación

1. Elección de piel

La piel que es más recomendable utilizar para realizar estudios de permeación, es la humana, sin embargo debido a su limitada disponibilidad, la piel de animal es frecuentemente utilizada para remplazar la piel humana, siendo la piel de cerdo el modelo más conveniente [59, 62, 71]. Aunque es frecuente que se utilicen otros modelos como la piel de ratón o rata, sin embargo hay que considerar que la piel de estos modelos nos conduce a una sobreestimación de la permeación, por ser más permeables [62].

2. Preparación de piel

Debido a que la piel humana tiende a ser más gruesa, y ha que esta posee grandes cantidades de tejido graso, y asumiendo que el SC es la capa de la piel que limita la permeación de los fármacos, es deseable reducir el grueso de la piel sin modificar las propiedades de barrera, utilizándose diferentes técnicas para lograr este objetivo, entre las cuales encontramos:

❖ Separación por calentamiento

El SC, es separado del resto de la piel, por inmersión de esta última en solución salina o buffer a 60°C por 2 minutos [62, 67].

❖ Separación química

Por medio de agentes químicos como la tripsina, hidróxido de sodio, ácido fórmico, y bromuro de sodio la piel puede ser separada a nivel del estrato lúcido [62].

❖ Separación física

A través del uso de un dermatoma eléctrico, se pueden hacer cortes finos de piel [62, 67, 69].

3. Almacenamiento de la piel

El método de elección es el de congelamiento con nitrógeno líquido a -20°C [62, 67].

4. Compartimiento receptor

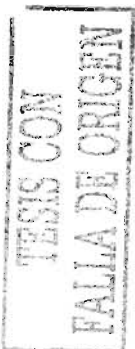
El medio preferido es la solución salina, con o sin el uso de antimicrobianos, debido a que es barato, representa de buena manera las condiciones fisiológicas, la desventaja es que puede obstaculizar la liberación de moléculas lipofílicas. También se han empleado soluciones amortiguadoras, y para representar el torrente sanguíneo se ha utilizado plasma pero no se han observado ventajas. La temperatura, en el compartimiento receptor se controla entre $35-37^{\circ}\text{C}$, buscando mantener la temperatura de la superficie de la piel en 32°C [62].

5. Muestreo del receptor

En general se utilizan dos formas de muestreo:

a. Muestreo con Alícuota

Esta técnica presenta varias desventajas inherentes como la alta laboriosidad debido al gran número de muestras, y si la agitación no es adecuada, la alícuota tomada no representará la fase receptora total.



b. Muestreo Continuo

La principal ventaja es que el muestreo se lleva a cabo automáticamente, las desventajas son que se tiene que adecuar un flujo para mantener las condiciones sink y el manejo adecuado de las muestras [62].

D. Membranas Limitantes

La barrera epidermal ha sido simulada, al impregnar membranas de nitrato de celulosa con miristato de isopropilo y un acarreador, Ethomeen S12 (amina alifática etoxilada), para estudiar la permeación [68].

MATERIALES Y EQUIPOS

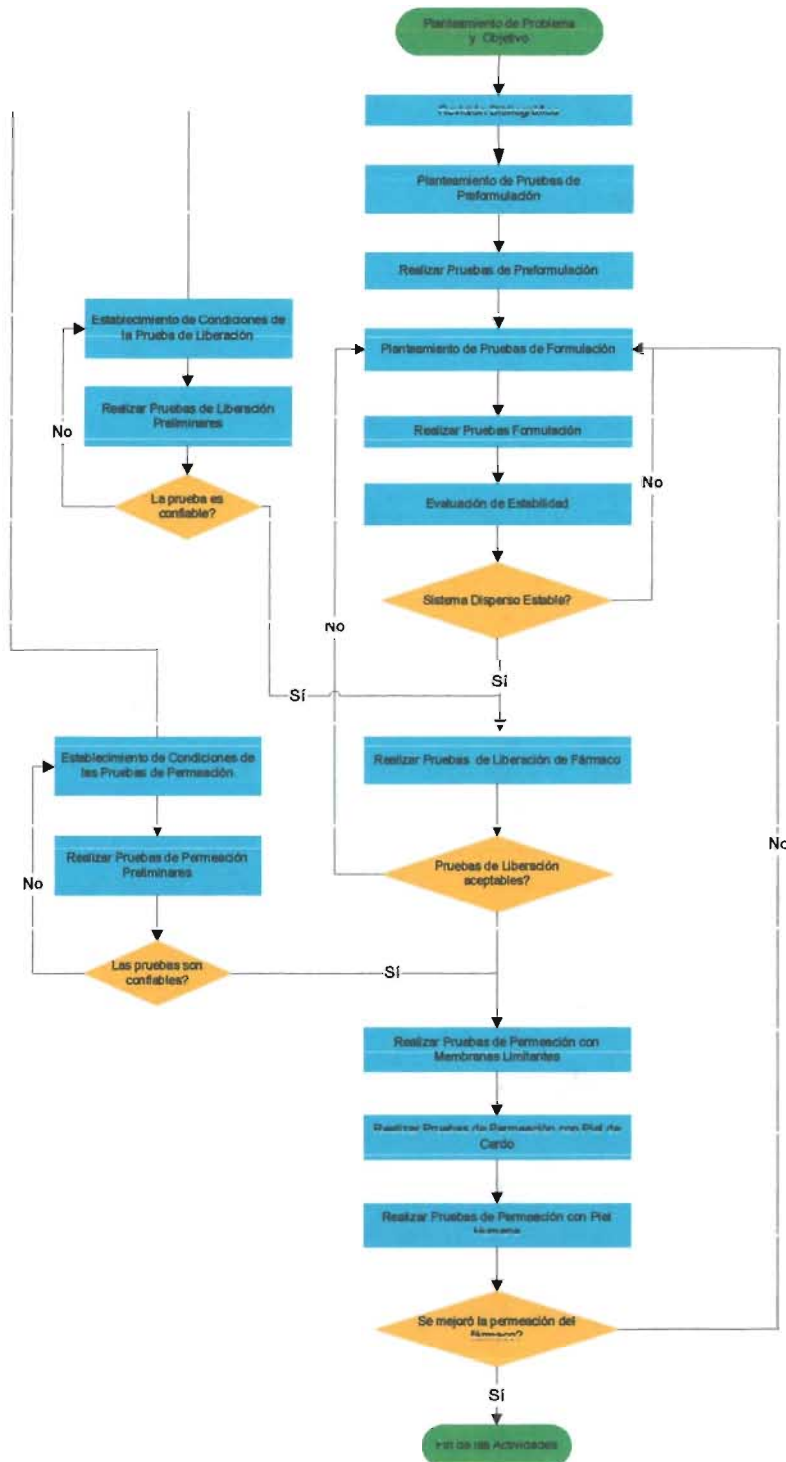
Agitador Tipo Caframo
Balanzas
Baño de Temperatura Controlada
Barras Magnéticas
Cajas Petri
Cámara Ambiental de Temperatura Controlada Hot Pack
Celdas de Cuarzo
Celdas Modificadas de Franz y Accesorios
Controlador de Velocidad de Agitación
Cronometro
Cubreobjetos
Escala Micrométrica
Escarpelo
Espectrofotómetro
Frascos de Polietileno de Alta Densidad
Jeringas
Membranas de Esteres de Celulosa Acetato Nitrato
Membranas de Polisulfona
Membranas HVLP de 0.45 μm
Microscopio Electrónico
Orejas de Cerdo
Papel Aluminio
Parrillas de Agitación
Piel Humana
Pinzas
Pipetas Pasteur
Pipetas Volumétricas
Portaobjetos
Potenciómetro
Probetas
Refrigerador
Sonicador
Termómetro
Tubos de Aluminio con Recubrimiento Epóxico
Tubos de Ensayo
Ultracongelador
Vasos de Precipitado
Vernier
Viscosímetro Brookfield
Vortex

MATERIAS PRIMAS Y REACTIVOS

Aceite Mineral
Alcohol Cetílico
Alcohol Estearílico
Butilhidroxi anisol
Butilhidroxi tolueno
Carbopol
Cloruro de Sodio
Colesterol
Colorante Color Rojo
Edetato disódico
Etanol
Fosfatidilcolina
Fosfatidilserina
Fosfato Dibásico de Sodio
Fosfato Monobásico de Sodio
Galato de Propilo
Hidróxido de Sodio
Isopropanol
Lecitina
Metabisulfito de sodio
Miristato de Isopropilo
Monoestearato de Sorbitan
Monoterpeno acíclico
Monoterpeno cíclico
Oligosacarido cíclico
Polisorbato 80/ Tween 80
Polisorbato60/ Tween 60
Propilenglicol
Trietanolamina

MÉTODOS

A. PLAN GENERAL DE ACTIVIDADES



B. PREFORMULACIÓN

a) *Compatibilidad Fármaco Excipiente*

Colocar en frascos de polietileno de alta densidad, una mezcla 1:1 de fármaco excipiente. Almacenar las muestras en refrigeración y a 60 ° C, por lo menos 3 meses. Revisar las muestras por lo menos una vez al mes y reportar cualquier cambio físico, observado.

b) *Solubilidad*

Colocar un exceso de fármaco en un volumen del solvente o de la mezcla cosolvente agua en cuestión, agitar el sistema constantemente bajo condiciones de temperatura controlada, por 48 h. Filtrar las muestras a través de una membrana de 0.45 micras, y determinar el contenido de fármaco espectrofotométricamente, por medición de la absorbancia de una solución diluida de la muestra a 275 nm versus una solución estándar. Realizar una solución del excipiente a la misma concentración, que la muestra problema y medir la absorbancia a 275 nm, considerar el blanco durante el cálculo del contenido de fármaco.

C. FORMULACIÓN Y ESTABILIDAD

a) Emulsión

1. Fabricación de Emulsiones
 - i. Calentar agua a 70 ° C y dispersar el o los emulsificantes hidrosolubles y adicionar el agente neutralizante
 - ii. Colocar los componentes correspondientes a la fase oleosa y los emulsificantes liposolubles en un cilindro de tamaño adecuado, calentar a 70° C y agitar
 - iii. Incorporar la dispersión obtenida en el paso ii en i, manteniendo la agitación constante
 - iv. Disminuir la temperatura de iii a 58 ° C
 - v. Solubilizar el fármaco en el disolvente
 - vi. Disolver el antioxidante y el agente quelante en agua.
 - vii. Adicionar la solución obtenida en vi en v y calentar a 58 ° C
 - viii. Incorporar vii en iv, bajo agitación constante
 - ix. Aforar

2. Criterios de Evaluación
 - i. Evaluación de Sensación al Tacto
Colocar una pequeña cantidad del semisólido, en la mano y untarlo, evaluar la facilidad de untabilidad, y la sensación al tacto en el área en la cual fue colocada la crema.

b) Microemulsión

1. Fabricación para elección y evaluación de concentración y mezclas binarias de surfactantes
Mezclar el cosurfactante, el surfactante y la fase oleosa, posteriormente adicionar la fase acuosa

2. Fabricación para evaluación de principio activo
Mezclar el cosurfactante, el surfactante, la fase oleosa y el fármaco, posteriormente adicionar la fase acuosa

3. Fabricación para evaluación de incorporación de microemulsión en un gel

Aplicar la metodología descrita en el punto 1 y la descrita en el punto de geles

4. Criterios de Evaluación

i. Apariencia

Evaluar el producto obtenido, si se observa una dispersión lechosa, catalogarla como emulsión, si se observa una dispersión transparente catalogarla como microemulsión. Evaluar la presencia de cristales, y materia extraña en la dispersión obtenida.

c) Geles

1. Fabricación

- i. Solubilizar el agente quelante y el antioxidante hidrosoluble en agua, posteriormente dispersar el agente viscosante.
- ii. Solubilizar en el disolvente 2, el agente promotor y el antioxidante liposoluble
- iii. Disolver el fármaco en el disolvente 1.
- iv. Incorporar la solución obtenida en el paso ii en i
- v. Incorporar la solución obtenida en el paso iii en iv
- vi. Adicionar lentamente bajo agitación constante el agente neutralizante
- vii. Aforar

2. Criterios de Evaluación

i. Apariencia

Evaluar las características físicas del gel, color y claridad

3. *Evaluación de Estabilidad*

Almacenar las muestras a 25 ° C/ 60% H.R. y 40 ° C/ 75 % H.R., evaluar las muestras a intervalos establecidos, en los siguientes rubros:

- i. apariencia
- ii. pH
- iii. viscosidad
- iv. pérdida de peso

d) Liposomas

1. Fabricación

Solubilizar los componentes lipofílicos y el fármaco en etanol. Hidratar, y sonicar la mezcla. Evaporar el disolvente.

2. Cuantificación de Fármaco Encapsulado

Centrifugar las dispersiones obtenidas y disolver el botón para determinar el contenido de fármaco espectrofotométricamente, por medición de la absorbancia de una solución diluida de la muestra a 275 nm versus una solución estándar. Realizar una solución del excipiente a la misma concentración, que la muestra problema y medir la absorbancia a 275 nm, considerar el blanco durante el cálculo del contenido de fármaco.

D. CELDA DE FRANZ

a) Caracterización de Celda de Franz

i. Volumen de Medio en la Celda

Lavar, secar y pesar cada una de las celdas. Llenar las celdas con agua cuidando que no se formen burbujas. Pesar las celdas llenas. Calcular el volumen que ocupa el agua en cada una de las celdas.

ii. Cantidad de Semisólido Dosificada

Lavar, secar y pesar cada uno de los dosificadores. Con la ayuda de una espátula colocar el semisólido en cuestión y pesar nuevamente cada uno de los dosificadores. Calcular la cantidad de semisólido dosificada.

iii. Área Expuesta

Medir la circunferencia de cada una de las celdas con la ayuda de un vernier. Calcular el área de contacto.

iv. Hidrodinámica del Medio Receptor

Preparar una solución colorida e introducir una muestra a través del puerto de inyección, encender la agitación y determinar el tiempo que tarda en observarse a través del medio receptor, una solución homogénea.

E. PRUEBAS DE LIBERACIÓN

a) *Preparación de Medio Receptor*

Preparar el medio receptor y desgasificarlo a vacío.

b) *Preparación de Membranas*

Sumergir las membranas en el medio receptor por un lapso de 30 minutos. Retirar cada una de las membranas del medio receptor y secar el exceso de este. Colocar cada una de las membranas en los dosificadores y presionar.

c) *Preparación de la Muestra*

Colocar con ayuda de una espátula el semisólido en cuestión en el dosificador con la membrana, enrasar cuidadosamente el producto al dosificador.

d) *Actividades Relacionadas con la Celda de Franz*

Llenar las celdas con el medio receptor a través del puerto de inyección. Colocar los dosificadores en la parte superior de la celda, teniendo cuidado de no dejar aire atrapado entre la membrana y el medio receptor, colocar el vidrio oclusivo, el anillo y las pinzas. Operar la agitación a 300 r. p. m.

e) *Muestreo*

Colocar la jeringa con en el puerto de muestreo e inyectar el medio receptor nuevo, recibiendo la muestra en un vial por el puerto de salida.

f) *Cuantificación*

Determinar el contenido de fármaco espectrofotométricamente, por medición de la absorbancia de una solución diluida de la muestra a 275 nm versus una solución estándar. Utilizar el medio receptor como blanco y medir la absorbancia a 275 nm, considerar el blanco durante el cálculo del contenido de fármaco.

g) *Tratamiento de Datos*

Calcular las cantidades acumuladas de fármaco liberado (μg) por unidad de área (cm^2) y graficarlas versus tiempo (min.). Calcular la velocidad o flujo de liberación de fármaco a través de la membrana ($\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min. } 0.5$) de la pendiente obtenida de la

región lineal correspondiente a la grafica de cantidad acumulada de fármaco liberado por unidad de área versus la raíz cuadrada del tiempo.

F. PRUEBAS DE PERMEACIÓN CON MEMBRANAS LIMITANTES

a) *Preparación de Medio Receptor*

Preparar el medio receptor y desgasificarlo a vacío.

b) *Preparación de Membranas*

Sumergir las membranas en el miristato de isopropilo por un lapso de 30 minutos. Retirar cada una de las membranas del miristato de isopropilo y secar el exceso de este. Colocar cada una de las membranas en los dosificadores y presionar.

c) *Preparación de la Muestra*

Colocar con ayuda de una espátula el semisólido en cuestión en el dosificador con la membrana, enrasar cuidadosamente el producto al dosificador.

d) *Actividades Relacionadas con la Celda de Franz*

Llenar las celdas con el medio receptor a través del puerto de inyección. Colocar los dosificadores en la parte superior de la celda, teniendo cuidado de no dejar aire atrapado entre la membrana y el medio receptor, colocar el vidrio oclusivo, el anillo y las pinzas. Operar la agitación a 300 r. p. m.

e) *Muestreo*

Colocar la jeringa con en el puerto de muestreo e inyectar el medio receptor nuevo, recibiendo la muestra en un vial por el puerto de salida.

f) *Cuantificación*

Determinar el contenido de fármaco espectrofotométricamente, por medición de la absorbancia de una solución diluida de la muestra a 275 nm versus una solución estándar. Utilizar como el medio receptor como blanco y medir la absorbancia a 275 nm, considerar el blanco durante el cálculo del contenido de fármaco.

g) *Tratamiento de Datos*

Calcular las cantidades acumuladas de fármaco penetrando (μg) por unidad de área (cm^2) y graficarlas versus tiempo (min.). Calcular la velocidad o flujo de permeación de fármaco a través de la membrana ($\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min. } 0.5$) de la pendiente obtenida de la

región lineal correspondiente a la grafica de cantidad acumulada de fármaco penetrando por unidad de área versus la raíz cuadrada del tiempo.

G. PRUEBAS DE PERMEACIÓN EN PIEL DE CERDO

a) *Preparación de Epidermis y Piel Entera*

Enjuagar las orejas de cerdo con abundante agua. Retirar la grasa y tejido presente en la piel con ayuda de un escarpelo.

Separar cuidadosamente el estrato corneo del resto de la piel, sumergiendo trozos de piel entera en solución salina a 60 ° C. Enjuagar el estrato corneo con solución salina y posteriormente secar. Almacenar el estrato corneo a – 5 ° C por no más de 4 semanas antes de su uso.

Antes del empleo del estrato corneo es necesario retirarlo de su almacenamiento y sumergirlo en una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 por un lapso de 1.0 h, posteriormente secar el exceso de medio receptor. Colocar el estrato corneo en los dosificadores y presionar.

b) *Preparación de Medio Receptor*

Preparar una solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.2, y desgasificar el medio a vacío.

c) *Preparación de la Muestra*

Colocar con ayuda de una espátula el semisólido en cuestión en el dosificador con el estrato corneo, enrasar cuidadosamente el producto al dosificador.

d) *Actividades Relacionadas con la Celda de Franz.*

Llenar las celdas con la solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 a través del puerto de inyección. Colocar los dosificadores en la parte superior de la celda, teniendo cuidado de no dejar aire atrapado entre la piel y el medio receptor, colocar el vidrio oclusivo, el anillo y las pinzas. Operar la agitación a 300 r. p. m.

e) *Muestreo*

Colocar la jeringa con en el puerto de muestreo e inyectar el medio receptor nuevo, recibiendo la muestra en un vial por el puerto de salida.

f) *Cuantificación*

Determinar el contenido de fármaco espectrofotométricamente, por medición de la absorbancia de una solución diluida de la muestra a 275 nm versus una solución

estándar. Utilizar el medio receptor como blanco y medir la absorbancia a 275 nm, considerar el blanco durante el cálculo del contenido de fármaco.

g) Tratamiento de Datos

Calcular las cantidades acumuladas de fármaco penetrando (μg) por unidad de área (cm^2) y graficarlas versus tiempo (min.). Calcular la velocidad o flujo de permeación de fármaco a través de la piel ($\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min.}$) de la pendiente obtenida de la región lineal correspondiente al estado estacionario de la grafica de cantidad acumulada de fármaco (μm) penetrando por unidad de área (cm^2) versus tiempo (min.). Calcular el tiempo de latencia (min.) de la intercepción de la pendiente en el estado estacionario con el eje "X". El factor de penetración es el resultado de la proporción del valor de flujo de la formula con promotor de la penetración con respecto a la obtenida con el producto de referencia.

H. PRUEBAS DE PERMEACIÓN EN PIEL HUMANA

a) *Preparación de Piel Entera*

Enjuagar el tejido fresco con abundante agua. Retirar la grasa presente en el tejido con ayuda de un escarpelo.

Enjuagar la piel con solución salina y posteriormente secar. Almacenar la piel a -5°C por no más de 4 semanas antes de su uso. Antes del empleo del estrato comeo es necesario retirarlo de su almacenamiento y sumergirlo en una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 por un lapso de 1.0 h, posteriormente secar el exceso de medio receptor. Colocar el estrato comeo en los dosificadores y presionar.

b) *Preparación de Medio Receptor*

Preparar una solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.2, y desgasificar el medio a vacío.

c) *Preparación de la Muestra*

Colocar con ayuda de una espátula el semisólido en cuestión en el dosificador con la piel, enrasar cuidadosamente el producto al dosificador.

d) *Actividades Relacionadas con la Celda de Franz.*

Llenar las celdas con la solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 a través del puerto de inyección. Colocar los dosificadores en la parte superior de la celda, teniendo cuidado de no dejar aire atrapado entre la piel y el medio receptor, colocar el vidrio oclusivo, el anillo y las pinzas. Operar la agitación a 300 r. p. m.

e) *Muestreo*

Colocar la jeringa con en el puerto de muestreo e inyectar el medio receptor nuevo, recibiendo la muestra en un vial por el puerto de salida.

f) *Cuantificación*

Determinar el contenido de fármaco espectrofotométricamente, por medición de la absorbancia de una solución diluida de la muestra a 275 nm versus una solución estándar. Utilizar como el medio receptor como blanco y medir la absorbancia a 275 nm, considerar el blanco durante el cálculo del contenido de fármaco.

g) *Tratamiento de Datos*

Calcular las cantidades acumuladas de fármaco penetrando (μg) por unidad de área (cm^2) y graficarlas versus tiempo (min.). Calcular la velocidad o flujo de permeación de fármaco a través de la piel ($\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min.}$) de la pendiente obtenida de la región lineal correspondiente al estado estacionario de la grafica de cantidad acumulada de fármaco (μm) penetrando por unidad de área (cm^2) versus tiempo (min.). Calcular el tiempo de latencia (min.) de la intercepción de la pendiente en el estado estacionario con el eje "X". El factor de penetración es el resultado de la proporción del valor de flujo de la formula con promotor de la penetración con respecto a la obtenida con los productos de referencia.

RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

A. ANALISIS DE FACTIBILIDAD

El desarrollo de un producto farmacéutico tópico, debe evaluar necesariamente como primera faceta, las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, ya que la composición y las características estructurales del estrato comeo pueden provocar que sean inefectivos cuando se administran por vía tópica. De tal manera, la literatura fue revisada estableciéndose teóricamente si el principio activo elegido, reunía con las características fisicoquímicas (peso molecular, coeficiente de partición, solubilidad) adecuadas para difundir pasivamente a través del estrato comeo. A continuación se presenta un breve compendio de dichos datos:

Propiedad Fisicoquímica	Valor encontrado
Peso Molecular	369.3
Coeficiente de partición	1.13
Solubilidad	Parcialmente soluble en agua
pKa	4

El fármaco elegido, como podemos observar posee las características fisicoquímicas adecuadas, para sufrir procesos de partición entre el vehículo-lípidos intercelulares del estrato comeo-capas de la piel con características hidrofílicas. Por otro lado se espera que un porcentaje importante del fármaco se encuentre no ionizado ya que esta forma es la única capaz de difundir a través de un ambiente poco polar, como la que posee la ruta intracelular de penetración de fármacos a través de la piel.

B. PREFORMULACIÓN, FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE ESTABILIDAD PRELIMINAR

Una vez determinada la factibilidad teórica del principio activo para ser aplicado tópicamente, se realizaron paralelamente las pruebas de preformulación y formulación.

Diferentes sistemas dispersos fueron desarrollados, estos no solo deben ser estables durante su vida de anaquel, sino también, deben presentar una alta permeación. Los diferentes sistemas dispersos, como las cremas, geles, microemulsiones, liposomas son formulados con diferentes excipientes, los cuales son imprescindibles no solo para formular el sistema disperso en cuestión, sino también, para su estabilidad; sin embargo, muchos de estos tienen una actividad inherente en la piel, como promotores de la penetración. De ahí que se desarrollaron los vehículos antes mencionados, desde el punto de vista de estabilidad (física, química, microbiológica), así como de biodisponibilidad.

Como primer paso se realizó un estudio de compatibilidad fármaco- excipiente. A continuación se presentan los resultados obtenidos:

Excipiente	Temperatura	
	5 ° C	60 ° C
Butilhidroxi anisol	S/C	S/C
Butilhidroxi tolueno	S/C	S/C
Carbopol	S/C	S/C
Edetato disódico	S/C	S/C
Isopropanol	S/C	S/C
Metabisulfito de sodio	S/C	S/C
Oligosacarido cíclico	S/C	S/C
Propilenglicol	S/C	S/C
Monoterpeno acíclico	S/C	S/C
Monoterpeno cíclico	S/C	S/C
Trietanolamina	S/C	S/C
Aceite Mineral	S/C	S/C
Miristato de Isopropilo	S/C	S/C
Monoestearato de Sorbitan	S/C	S/C
Polisorbato60/ Tween 60	S/C	S/C
Polisorbato 80/ Tween 80	S/C	S/C
Alcohol Estearílico	S/C	S/C
Alcohol Cetílico	S/C	S/C

Claves:

S/C= Sin interacción

C/C= Indicios de interacción

Las pruebas realizadas nos indican que no se presenta ninguna interacción que provoque algún cambio físico, sin embargo el no observar ningún cambio físico no nos aseguran que no exista ninguna interacción química entre el fármaco y los excipientes.

Como parte de las pruebas de desarrollo para un medicamento, la solubilidad del principio activo en diferentes solventes de uso farmacéutico, los cuales también son considerados como promotores de la penetración, se determinó y los resultados obtenidos son presentados a continuación.

Disolvente	Solubilidad a 25 ° C (mg / mL)
Isopropanol	16.24
Propilenglicol	>61.75
Agua Purificada	6

Estos resultados nos indican que el fármaco es soluble en solventes con una polaridad baja, así mismo, se observa una solubilidad baja en agua lo que nos lleva a pensar que el fármaco se encuentra poco ionizado bajo las condiciones en las cuales se realizó la prueba. El isopropanol y el propilenglicol parecen ser una opción para mantener el fármaco soluble en el vehículo de los sistemas.

El desarrollo de diversos sistemas los cuales nos permitirían, evaluar la liberación y permeación del fármaco, y posteriormente elegir la mejor opción que presentará una absorción mejorada con respecto al producto de referencia, se llevo a cabo y a continuación se presentan las diferentes fórmulas y los resultados:

a) *Emulsión*

Excipientes	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6	Formula 7	Formula 8	Formula 9
Activo	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Cosolvente 1	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
Aceite Mineral	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	-	3.0	6.0	3.0
Ministato de Isopropilo	6.0	6.0	6.0	6.0	-	5.0	-	-	-
Emulsificante 1	3.0	-	-	3.0	-	5.0	-	5.0	-
Emulsificante 2	-	3.0	1.5	3.0	3.5	-	5.0	-	3.0
Emulsificante 3	-	1.0	0.5	1.0	-	1.0	-	1.0	2.0
Emulsificante 4	-	-	-	0.5	-	1.0	1.0	1.0	1.0
Agente Quelante	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Antioxidante 1	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Antioxidante 2	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Agente Neutralizante 1	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044
Agua Purificada	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Resultados	E/I	E/I	E/I	E/I	E/I	D/S	D/S	D/S	D/S

Claves:

E/I = Emulsión Inestable

E/E = Emulsión Estable, al aplicar en la piel se percibe una sensación grasosa

D/S = Emulsión Estable, al aplicar en la piel se percibe una disminución de sensación al tacto al aplicar la emulsión

Se realizaron varias pruebas en las cuales se eliminó la cantidad presente de emulsificantes y no se redujo la cantidad de fase oleosa (formulas 1 a la 4), los resultados nos muestran que el sistema final es inestable. La reducción y/ o eliminación de algún componente de la fase oleosa, aunado a la reducción y/ o eliminación de emulsificantes en las formulas 6 a la 9 nos conduce a reducir la presencia de residuos grasosos en la piel y ha obtener sistemas estables, con excepción de lo que sucedió en la formula 5 en la cuál la disminución drástica de emulsificantes nos condujo a obtener un sistema inestable. Aunque existen diferentes maneras de estabilizar una emulsión, en el caso de las formulas propuestas la estabilidad de estas, depende de la presencia de los emulsificantes, por lo

que cualquier cambio drástico en la cantidad presente de ellos en la fórmula sin una correspondiente disminución en la cantidad de los componentes oleosos, nos condujo a obtener sistemas inestables.

De acuerdo a los resultados obtenidos, las fórmulas 6 a 9 representan ser, una opción para evaluar su desempeño en las pruebas de liberación y permeación.

b) Microemulsiones

En las siguientes tablas se presenta un compendio de las pruebas y resultados obtenidos al formular una microemulsión

i. Elección de Surfactante

<i>Excipientes</i>	<i>Formula 1</i>	<i>Formula 2</i>	<i>Formula 3</i>	<i>Formula 4</i>	<i>Formula 5</i>	<i>Formula 6</i>
Surfactante 1	20.0	25.0	30.0	-	-	-
Surfactante 2	-	-	-	20.0	25.0	30.0
Cosurfactante	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Fase Acuosa	45.0	45.0	45.0	45.0	45.0	45.0
Fase Lipofílica	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Resultados	E	E	E	M	M	M

ii. Evaluación de Concentración de Surfactante

<i>Excipientes</i>	<i>Formula 7</i>	<i>Formula 8</i>	<i>Formula 9</i>	<i>Formula 10</i>
Surfactante 2	4.0	8.0	12.0	16.0
Cosurfactante	5.0	5.0	5.0	5.0
Fase Acuosa	45.0	45.0	45.0	45.0
Fase Lipofílica	6.0	6.0	6.0	6.0
Resultados	E	E	E	E

Claves:

E = Emulsión

M = Microemulsión

Las cantidades necesarias de surfactante para formar una microemulsión son altas, lo cuál corresponde a lo reportado en la literatura, cuando se disminuye la cantidad de surfactantes presentes en la formula se observa la formación de emulsiones.

iii. Evaluación de Principio Activo en Microemulsión

<i>Excipientes</i>	<i>Formula 11</i>	<i>Resultados (Aspecto)</i>
Activo	1.2	No se logra solubilizar el principio activo
Surfactante 2	20.0	
Cosurfactante	5.0	
Fase Acuosa	20.0	
Fase Lipofílica	6.0	

El principio activo en el vehículo de la microemulsión, no se mantuvo soluble en la microemulsión.

iv. Formula Propuesta Evaluando la Incorporación de la Microemulsión en una Formulación para Gel

<i>Formula 12</i>	<i>Resultados (Aspecto)</i>
Principio Activo Agente Viscosante 1 Agente Neutralizante 2 Cosolvente 1 Cosurfactante Agente Quelante Antioxidante 2 Fase Lipofílica Surfactante 2	Se observa que la apariencia final del semisólido es lechosa

Cuando se incluyo la microemulsión en el vehículo base de un gel, no fue posible mantener la microemulsión estable probablemente debido a que algunos excipientes presentes en el, son cosurfactantes, desestabilizando a la microemulsión.

c) Geles

Las pruebas, resultados y formulas tentativas desarrolladas a continuación se presentan.

i. Elección de Viscosante

<i>Agente Viscosante</i>	<i>Facilidad de Dispersión</i>	<i>Aspecto</i>
1	Fácil	Muy Agradable
2	Fácil	Agradable
3	Fácil	Desagradable
4	Fácil	Desagradable
5	Fácil	Desagradable

En este sistema disperso se detectaron problemas de inestabilidad del fármaco, al observarse cambios de color en los sistemas durante el almacenamiento, razón por la cuál fue necesario realizar evaluaciones con antioxidantes.

ii. Elección de Antioxidante

<i>Antioxidante</i>	<i>Observaciones</i>
1	C/C
2	C/C
3	C/C
4	C/C
2,4	S/C
3,4	C/C

Claves:

C/ C = Se observa un cambio físico del sistema con el tiempo, con respecto a la apariencia inicial del sistema

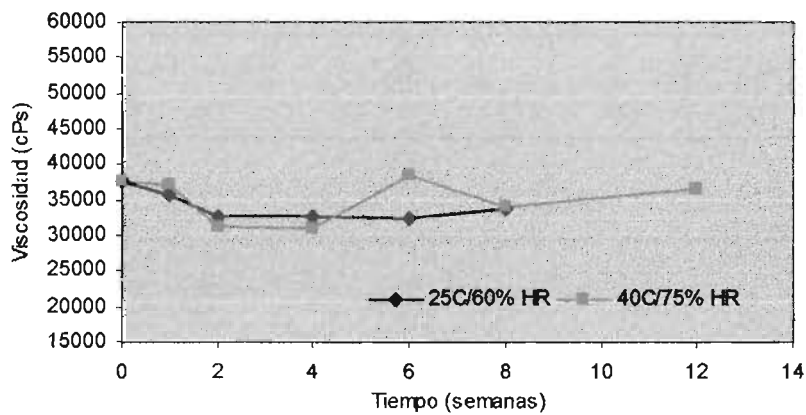
S/ C = No se observan cambios físicos con el tiempo, con respecto a la apariencia inicial del sistema

La oxidación del fármaco no fue estabilizada por la inclusión en el sistema de un antioxidante único, aunque se probaron diferentes antioxidantes los cuales actúan por diferentes mecanismos (donadores de protones y por reducción de oxígeno) no se logro estabilizar al fármaco; sin embargo, se observó que la combinación de dos antioxidantes que actúan como terminadores de cadena por mecanismos diferentes (antes mencionados), estabilizan la oxidación del fármaco.

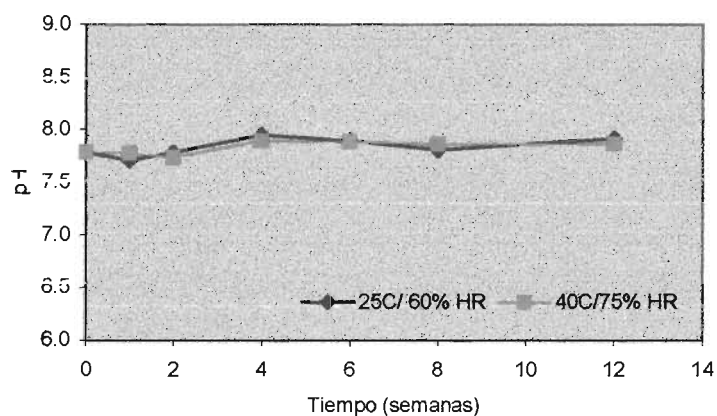
Considerando los resultados de las pruebas anteriormente descritas, se evaluó la estabilidad de la fórmula que a continuación se describe:

<i>Fórmula</i>	1, 2
Activo	1.2
Disolvente 1	20.0
Disolvente 2	15.0
Viscosante 1	1.0
Agente Neutralizante 2	2.4
Agente Quelante	0.2
Antioxidante 1	0.03
Antioxidante 2	0.02
Promotor 1	-
Promotor 2	-
Promotor 3	-
Aromatizante	-
Agua Purificada cbp	100.0

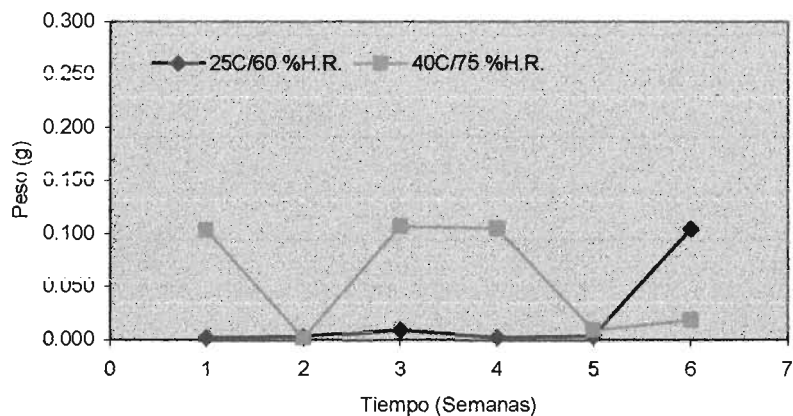
1. Resultados de Evaluación de Viscosidad



2. Resultados de Evaluación de pH



3. Resultados de Perdida de Peso a Través del Envase Primario



Las variaciones de pH y viscosidad observadas durante el almacenamiento, son no son indicativas de inestabilidad química del producto.

d) *Liposomas*

Las formulas desarrolladas, el porcentaje de fármaco encapsulado, así como los resultados de estabilidad, se presentan a continuación.

i. Formulas Propuestas

<i>Formula Base</i>	<i>Formula 1</i>	<i>Formula 2</i>	<i>Formula 3</i>	<i>Formula 4</i>
Principio Activo	1	1	1	1
Lecitina	-	-	1	1
Fosfatidilcolina	1	1	-	1
Fosfatidilserina	-	2	-	-

1. Resultados

<i>Formula</i>	<i>% Encapsulado</i>	<i>Observaciones</i>
1	63.76	C/C
2	37.23	C/C
3	59.73	C/C
4	77.80	C/C

Claves:

C/C = Se observa un cambio físico del sistema con el tiempo, con respecto a la apariencia inicial del sistema

S/C = No se observan cambios físicos con el tiempo, con respecto a la apariencia inicial del sistema

La estabilidad de los liposomas esta determinada por las interacciones inter-liposomicas, las cuales dependen del balance de las fuerzas de atracción y repulsión. Incrementos en las fuerzas de repulsión contribuyen a un aumento en la estabilidad de la dispersión. En el caso de las formulas propuestas bajo las condiciones de prueba, los fosfolípidos empleados carecen de carga lo que aunado a que no se empleo ningún estabilizador que ejerciera un efecto estérico y la falta de inclusión de fosfolípidos saturados y/ o colesterol provoco que la bicapa fuera más permeable, lo que trajo por ende que el sistema fuera inestable, de ahí que se observará una perdida de fármaco, el cuál muy probablemente se encuentre intercalado en la bicapa que forman los fosfolípidos como consecuencia de su poca polaridad, lo cuál fue físicamente visible al observarse una perdida de fármaco encapsulado con el tiempo.

En general el fármaco encapsulado en las formulas propuestas fue bueno con excepción con el obtenido en la formula 2.

C. IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS DE LIBERACIÓN Y PERMEACIÓN

El primer paso seguido de la aplicación tópica de un fármaco es la liberación de este del vehículo, sin embargo antes de realizar dichas pruebas fue necesario caracterizar las celdas de Franz modificadas, determinándose la cantidad de medio que podían contener cada uno de las celdas, y el área que se encuentra en contacto con el medio receptor, datos necesarios para determinar la cantidad liberada por cm^2 .

i. Volumen de Medio en la Celda

1	7.009
2	7.014
3	6.672
4	6.691
5	6.837
6	6.841

ii. Área Expuesta

1	1.7530
2	1.7789
3	1.7671
4	1.7719
5	1.7624
6	1.7955

Ya que una de las desventajas potenciales de la celda de Franz es una pobre hidrodinámica, esta fue evaluada

iii. Hidrodinámica

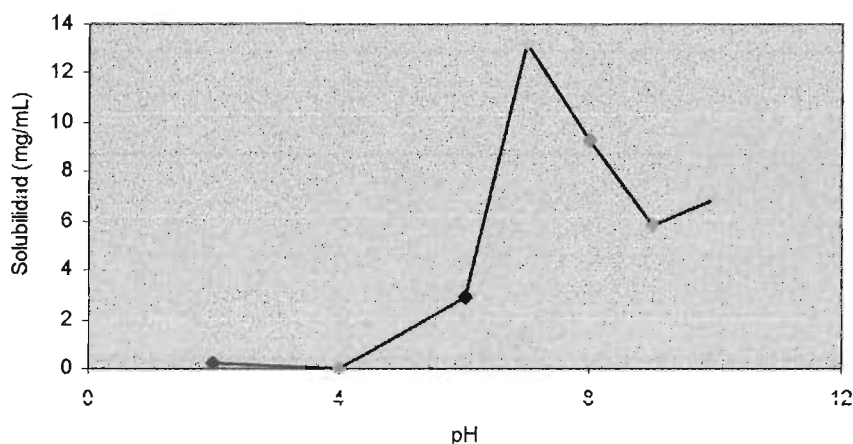
<i>Tiempo de Homogenización de Colorante (min.)</i>
<1

El mezclado hidrodinámico de las celdas es bueno ya que en menos de un minuto se observa que todo el medio receptor tiene una composición homogénea, lo cuál es

importante ya que la formación de capas estacionarias en la parte superior de la celda, provoca una difusión limitada del fármaco hacia el medio receptor.

Una de las condiciones a definir más importantes para llevar a cabo las pruebas de liberación y permeación, es el medio receptor, este debe ser capaz de mantener las condiciones sink durante toda la prueba de liberación y permeación, para lo cual se determinó la solubilidad del fármaco a diferentes condiciones

Perfil pH-solubilidad a 25 ° C

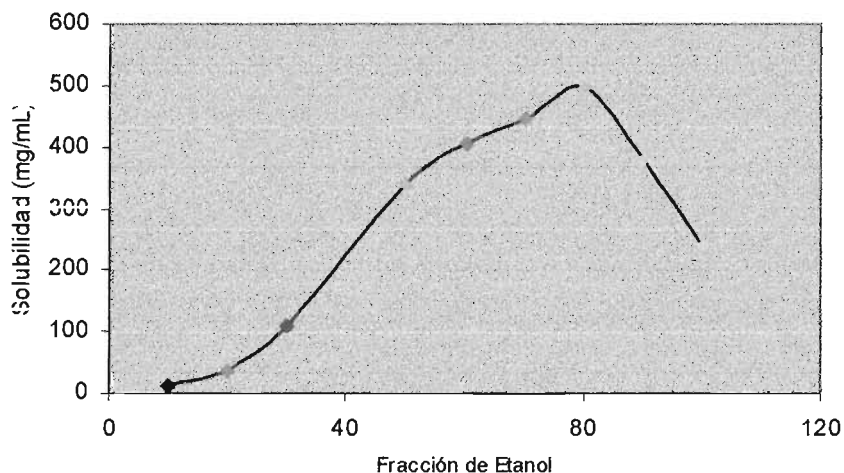


Solubilidad a diferentes pH's y temperaturas

Temperatura (° C)	pH	Solubilidad (mg / mL)
32	8.0	14.92
37	7.2	12.93
37	7.4	9.71

En la gráfica anterior podemos observar que conforme se incrementa el pH de la solución, también se incrementa la solubilidad del fármaco hasta alcanzar un valor máximo a un pH de 7, como consecuencia de que los grupos ionizables en la molécula del fármaco están desprotonados, promovándose la solubilidad del fármaco, sin embargo al aumentar el pH uno de los grupos ionizables se protona, disminuyendo su solubilidad.

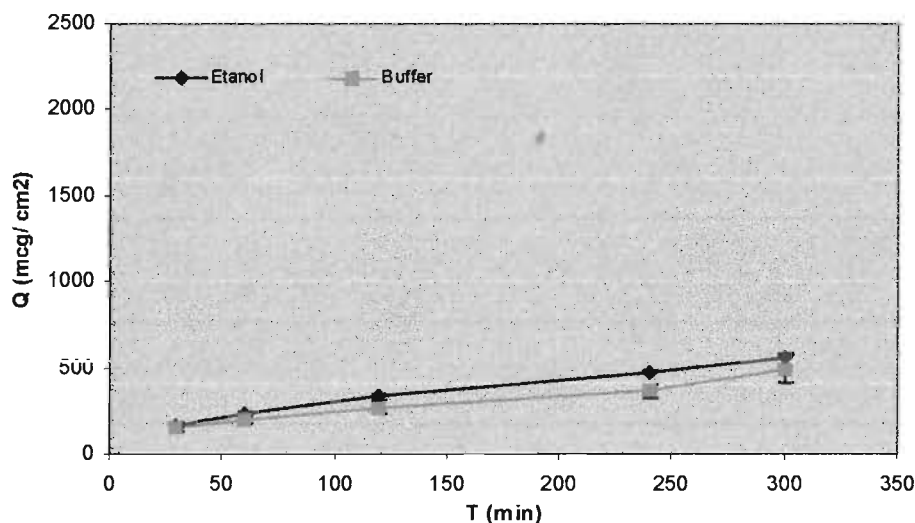
Solubilidad del Principio Activo en Etanol a 25 ° C



La forma de la curva obtenida en el perfil es atribuida a que la constante dieléctrica de la mezcla etanol agua disminuye conforme aumenta la cantidad de etanol aumentando la solubilidad del fármaco, hasta un punto máximo en el cuál la polaridad de la mezcla iguala la polaridad del fármaco. Posteriormente disminuye la solubilidad del fármaco, al aumentar la cantidad de etanol en el sistema, como consecuencia de la disminución de la polaridad del sistema cosolvente.

Los amortiguadores, así como, las mezclas hidroalcohólicas son capaces de mantener las condiciones sink durante las pruebas de liberación del fármaco en el vehículo, las primeras pruebas de liberación realizadas evaluaron la influencia que tiene el medio receptor en la liberación del fármaco, es importante comentar que para esta prueba se empleó un producto de referencia de dos disponibles, a continuación se presentan los resultados obtenidos:

Prueba de Liberación con Diferentes Medios Receptores, para la Referencia 2



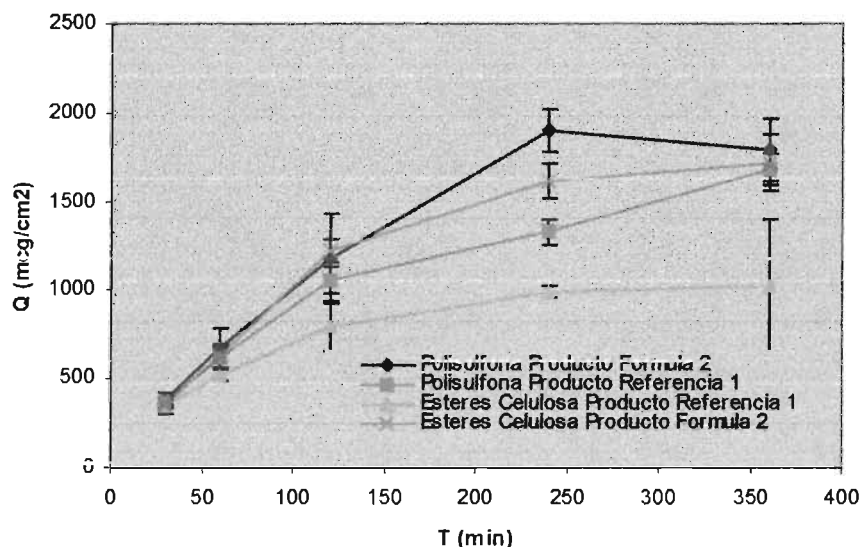
Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min 0.5)
	Referencia 2	Etanol	30.412
Medio Receptor		Buffer	21.384

Los valores de flujo obtenidos son similares a pesar de que el fármaco, es más soluble en las mezclas de etanol-agua, que en las soluciones amortiguadoras, por lo que se esperaba que cuando se utilizarán las soluciones hidroalcohólicas como medio receptor en la celda de Franz, se liberaría más fármaco hacia éste. El empleo de soluciones hidroalcohólicas generó problemas durante la prueba, como consecuencia de la fácil evaporación del medio receptor provocando una reducción del área de contacto entre el medio receptor y la membrana, trayendo como consecuencia que los flujos a través de la membrana fueran menores, y estos a su vez fueran similares a los obtenidos al emplear el buffer como medio receptor, por lo que se decide emplear soluciones amortiguadoras tanto para las pruebas de liberación como de permeación.

Una vez determinado el medio receptor, posteriormente se evaluó el efecto en la liberación del fármaco por el soporte, el cuál no debe limitar la difusión del fármaco hacia el medio receptor. Las membranas de polisulfona y de esteres de celulosa, ambas recomendadas

por la FDA, fueron evaluadas empleando como semisólidos de prueba la referencia 1 y la formula 2 del gel (ver pp. 80).

Evaluación de Diferentes Soportes, para el Producto de Referencia 1 y la Formula 2 del Gel



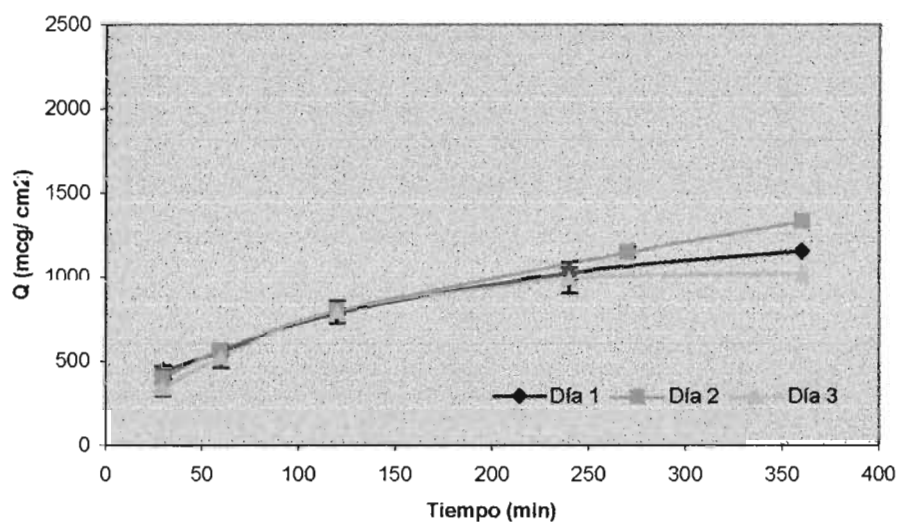
Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo ($\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$)
Membrana	Referencia 1	Polisulfona	94.465
		Esteres mezclados de celulosa (acetato y nitrato)	65.340
	Formula 2	Polisulfona	145.650
	Gel	Esteres mezclados de celulosa (acetato y nitrato)	129.090

Las pruebas nos indican que las membranas de polisulfona ofrecen una menor resistencia a la difusión del fármaco hacia el medio receptor, cuando el semisólido de prueba es el producto de referencia 1, obteniéndose flujos de $94.465 \mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$ contra el flujo obtenido cuando se utilizaron las membranas de celulosa de $65.340 \mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$, sin embargo no se observó un comportamiento tan marcado cuando el semisólido de prueba fue la formula 2, teniendo valores de flujo de $145.65 \mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$ cuando se empleo la membrana de polisulfona y $129.09 \mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$, cuando se utilizaron las membranas de celulosa. El mayor flujo de fármaco a través de las membranas de polisulfona podría ser

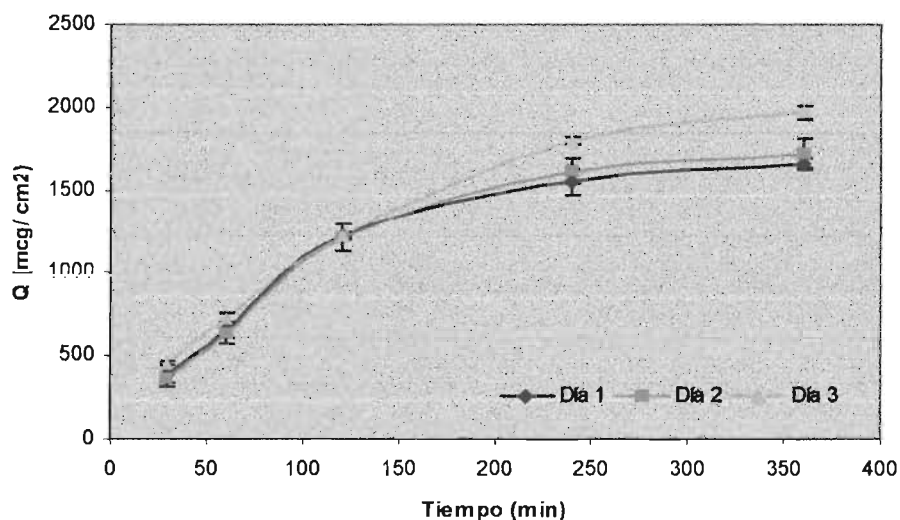
el resultado de una mayor porosidad y un menor espesor de la membrana en comparación a las membranas de celulosa.

Una vez establecidos algunos parámetros importantes de la prueba, se evaluó si dicha prueba bajo las condiciones establecidas era reproducible de tal manera, que se procedió a realizar la evaluación, empleando como semisólido de prueba a la referencia 1 y la formula 2 del gel.

Evaluación de Reproducibilidad de Prueba de Liberación de Producto de Referencia 1



Evaluación de Reproducibilidad Prueba de Liberación para la Formula 2 del Gel



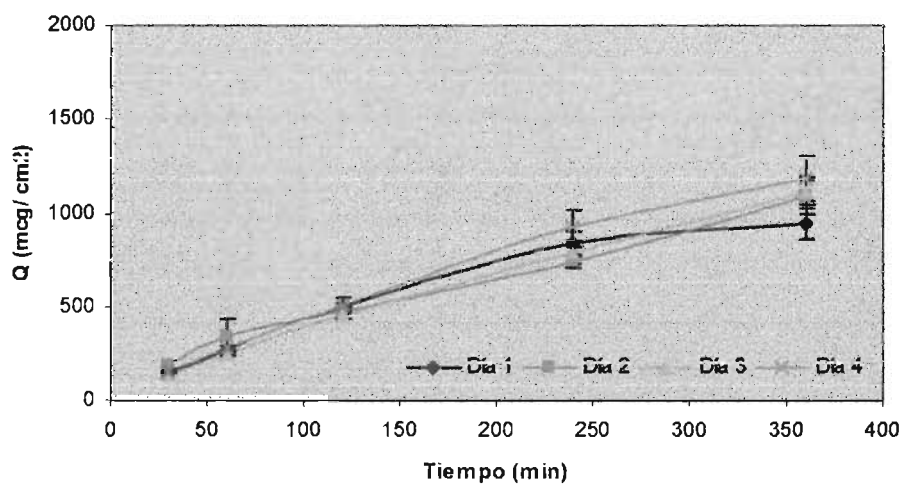
Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min 0.5)
Prueba de Repetibilidad	Referencia 1	Día 1	59.776
		Día 2	68.271
		Día 3	65.338
	Formula 2 Gel	Día 1	120.300
		Día 2	129.080
		Día 3	136.480

Como podemos observar los resultados de liberación del producto de referencia 1 (59.776, 68.271, 65.338 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{min}^{0.5}$) así como el gel con la formula 2 (120.300, 129.08, 136.48 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{min}^{0.5}$), nos muestran que la cantidad de fármaco que difunde a través de la membranas son similares. Las diferencias observadas, de fármaco liberado, en los perfiles de liberación en tiempos mayores a 120 minutos, es atribuido a diferencias en la cantidad dosificada de fármaco, ya que en estos casos la cantidad de fármaco dosificado es considerada como una dosis finita, teniendo esto un impacto en las cantidades finales de fármaco liberadas.

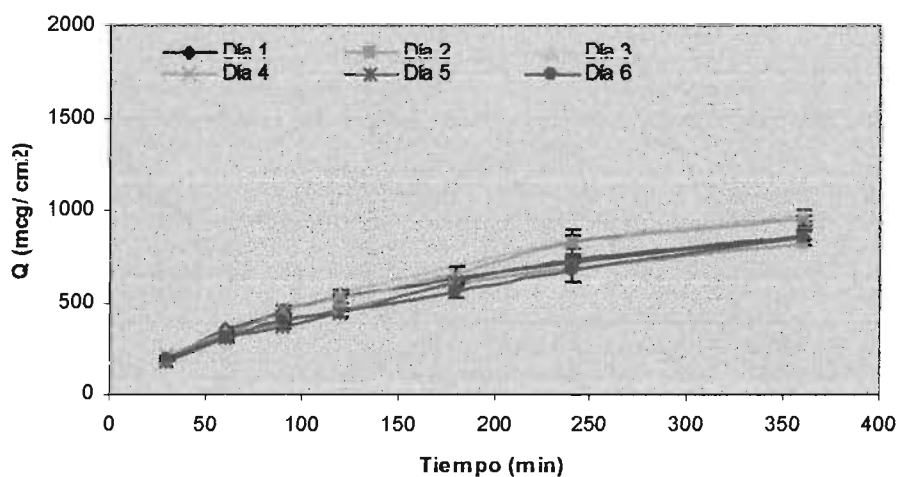
Aunque las pruebas de liberación son importantes ya que nos indica si un fármaco esta o no disponible para penetrar a través de la piel, las pruebas de permeación son el parámetro más importante como consecuencia de que el paso limitante de la permeación

del fármaco a través de la piel es el estrato corneo, como antes se menciono. Es de vital importancia encontrar un modelo adecuado que nos de un comportamiento cercano a lo que sucederá en la piel humana. En particular el uso de las membranas limitantes es un modelo interesante debido a que no se trabaja con material biológico, así mismo se reduce la variabilidad asociada a los materiales biológicos. Con respecto a las pruebas de liberación, las pruebas de permeación solo sufrieron un cambio, la membrana empleada; sin embargo, fue importante evaluar la reproducibilidad de dichas pruebas tanto al emplear las membranas limitantes, como la piel de cerdo, para el primer caso la se empleó como semisólidos de prueba, la referencia 1 y la formula 2 del gel, mientras que para las pruebas con piel se empleo la formula 9 del gel (ver pp. 94).

Prueba de Permeación con Membranas Limitantes de la Formula 2 para el Gel en Diferentes Días



Prueba de Permeación con Membranas Limitantes con el Producto de Referencia 1 en Diferentes Días

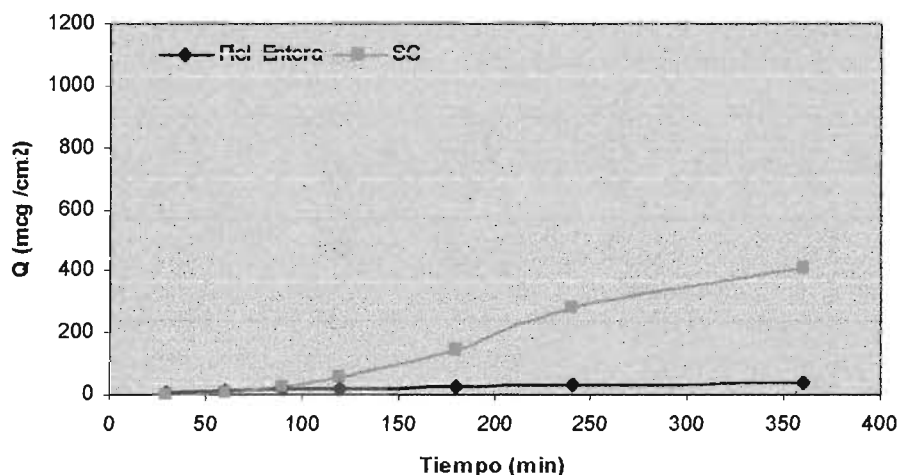


Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min 0.5)
Prueba de Repetibilidad	Formula 2	Día 1	65.511
		Día 2	63.741
		Día 3	64.648
		Día 4	64.876
	Referencia 1	Día 1	50.501
		Día 2	50.410
		Día 3	58.335
		Día 4	56.763
		Día 5	51.966
		Día 6	50.619

Los resultados de flujo obtenidos al evaluar la permeación de fármaco con membranas limitantes en días diferentes para la formula 2 (65.511, 63.741y 64.648, 64.876 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$) y para el producto de referencia 1 (50.501, 50.410, 58.335, 56.763, 51.966 y 50.619 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \text{ min}^{0.5}$) son comparables, y las diferencias obtenidas pueden ser atribuidas a errores aleatorios durante la prueba y /o cuantificación.

Antes de llevar a cabo las pruebas para evaluar la reproducibilidad con la piel de cerdo, fue necesario establecer, si era más adecuado emplear la piel entera o estrato comeo.

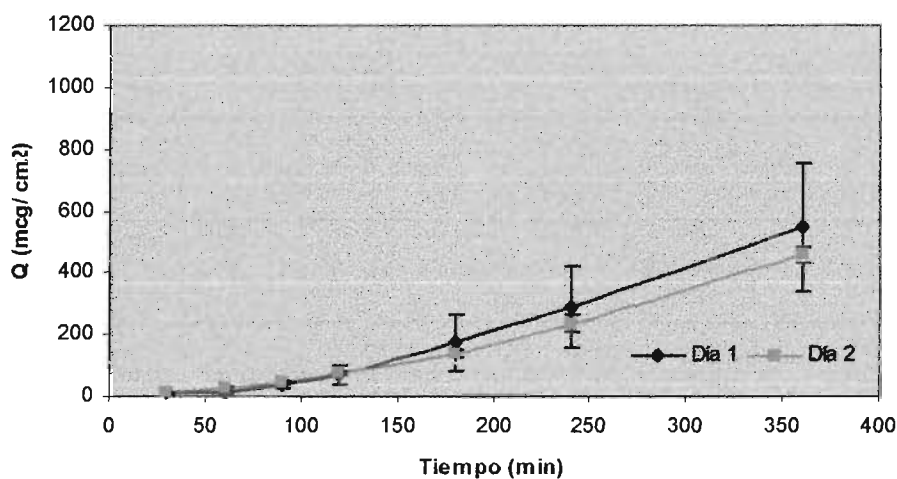
Comparación de Permeación de la Formula 9 para el Gel, entre Piel Entera y SC



Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min)	Tiempo de Latencia (min)	F _D
Diferentes Condiciones de Membrana (Estrato Corneo vs Piel Entera)	Gel	Formula 9	-	-	-
	Gel	Formula 9	1.485	74.166	1.160
		SC			

En las pruebas realizadas con piel entera de cerdo (es decir con piel en la cual solo fue retirada la grasa presente), la permeación fue menor a lo se observa en la prueba con estrato corneo estos resultados tienen sentido ya que la permeación a través de la piel es resultado de un proceso de difusión pasiva que de acuerdo a la primera ley de Fick, esta en función del grosor de la membrana empleada, de tal manera que durante el período de tiempo en el cuál se realizó la prueba, cuando se empleó la piel entera, solo se observó la fase de latencia mientras que cuando se empleó el estrato corneo se observaron ambas fases tanto la de latencia como la estacionaria. Debido a que la principal barrera para que el fármaco penetre a través de la piel es el estrato corneo, la permeación fue solo evaluada utilizando el estrato corneo, por lo que se procedió a realizar la prueba de reproducibilidad.

Comparación de Prueba de Permeación para la Formula 9 correspondiente al Gel en Días Diferentes con Estrato Comeo de Cerdo



Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min)	Tiempo de Latencia (min)	F _D
Evaluación de Reproducibilidad	Gel	Formula 9 Día 1	1.905	80.911	1.265
		Formula 9 Día 2	1.543	74.795	1.170

Aunque se llevó a cabo una prueba de reproducibilidad en días diferentes, empleando como sistema de prueba la formula 9, y a pesar de la variabilidad que se tuvo al emplear piel de diferentes ejemplares de cerdo, se puede observar que los datos de flujo y el tiempo de latencia son muy similares, por lo que podemos decir que las condiciones bajo las cuales se corre la prueba se encontraban bajo control, atribuyéndose las variaciones a la variabilidad biológica de la piel.

D. OPTIMIZACIÓN DE PERMEACIÓN

Una vez establecidas las condiciones de la prueba, se procedió a realizar las pruebas de liberación y de permeación con el objetivo de optimizar la formula, para obtener una permeación mejorada con respecto a los productos de referencia.

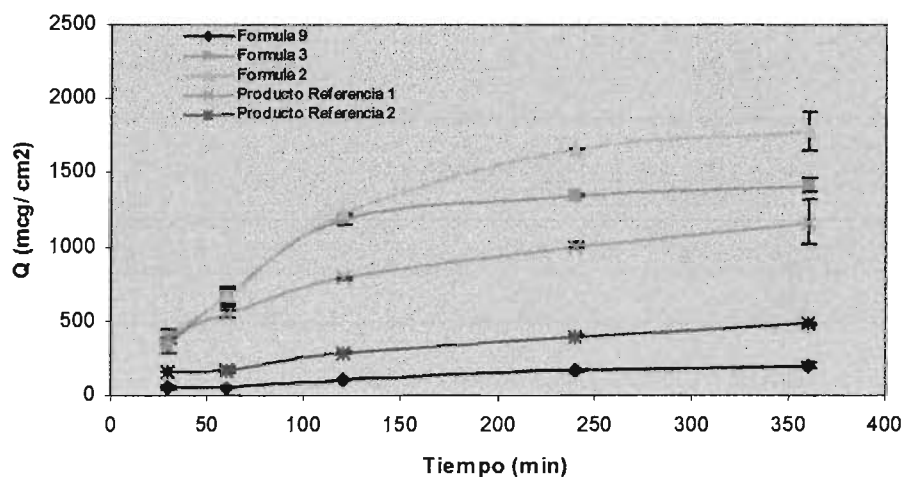
Diferentes formulas de geles fueron evaluadas y a continuación se presenta un breve compendio:

Formula	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Activo	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Disolvente 1	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Disolvente 2	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Viscosante 1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Agente	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
Neutralizante														
2														
Agente	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Quelante														
Antioxidante	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
1														
Antioxidante	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
2														
Promotor 1	1.0	-	-	-	-	-	-	1.0	1.0	1.0	-	-	-	-
Promotor 2	-	-	-	-	1.0	2.0	3.0	5.0	-	-	1.0	2.0	3.0	-
Promotor 3	-	2.0	2.5	3.0	-	-	-	-	3.0	5.0	2.5	3.0	-	3.0
Aromatizante	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	1.0
Agua	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Purificada														
cbp														

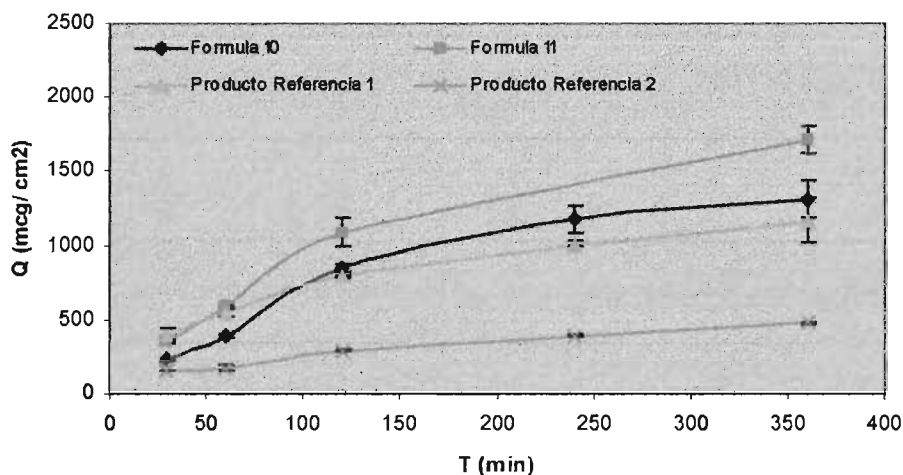
Los semisólidos de prueba para optimizar la permeación del fármaco, solo incluyeron los geles y estos fueron evaluados con respecto a los productos de referencia, tanto los liposomas, como las microemulsiones formuladas no fueron estables por lo que no se evaluó ni su liberación ni permeación, por lo que respecta a las emulsiones estas tampoco fueron evaluadas, ya que inicialmente se tuvo un avance importante en el desarrollo de los geles, lo que provoco que el resto de las formas farmacéuticas tuvieran un desarrollo más lento, por lo que finalmente no se realizó ninguna prueba de optimización.

Las diferentes formulas de los geles fueron optimizadas, incorporando en una formula base diferentes promotores, es así que se procedió primero a evaluar el efecto de los diferentes promotores sobre la liberación del fármaco.

Prueba de Liberación de Geles con diferentes Promotores de la Penetración



Prueba de Liberación de Geles con Mezclas de Promotores de la Penetración



<i>Factor Evaluado</i>	<i>Producto</i>	<i>Variable</i>	<i>Flujo (mcg / cm² min 0.5)</i>
Promotores Solos	Gel	Formula 9	11.841
		Formula 3	154.820
Combinación de Promotores	Gel	Formula 10	98.123
		Formula 11	136.370
Referencia	Gel	Formula 2	128.620
	Referencia 1	-	57.278
	Referencia 2	-	25.018

La presencia de promotores hidrofóbicos en los vehículos (Formula 9; 11.841, Referencia 1; 57.278, y Referencia 2; 25.018 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{min}^{0.5}$) disminuye la liberación del fármaco, en comparación a lo observado con promotores hidrofílicos (Formula 2; 128.620, Formula 3; 154.820 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{min}^{0.5}$) como resultado de que el fármaco presenta una mayor preferencia por permanecer en el vehículo que por difundir hacia el medio receptor, como consecuencia de que el fármaco es poco polar, sin embargo es importante comentar que el efecto que los promotores pueden tener en la piel, son de mayor valor que el efecto que ejercen sobre la liberación del fármaco. La inclusión de promotores de la penetración que tienen la función de ser acarreadores de fármaco cuando se tienen en la formula promotores de la penetración de naturaleza hidrofobica mejora la difusión del fármaco al medio receptor, como se observa en los resultados obtenidos de flujo, en las formulas 10 (98.123 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{min}^{0.5}$) y 11 (136.370 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{min}^{0.5}$).

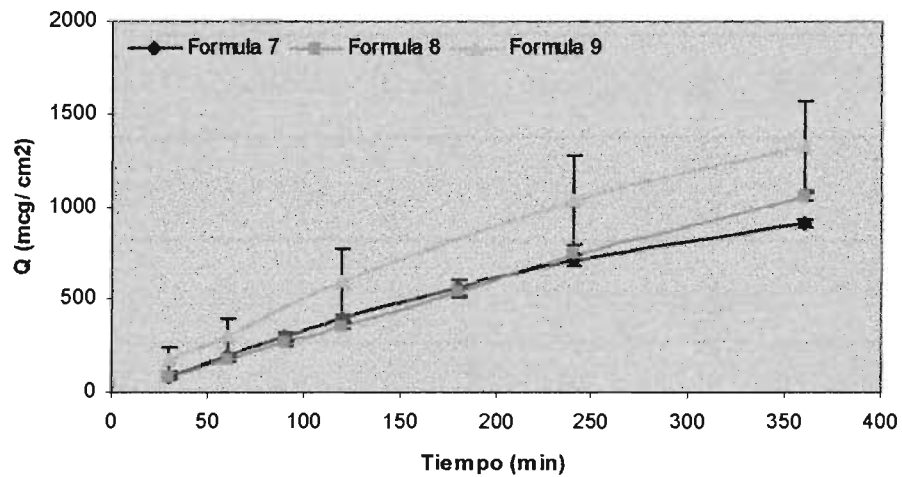
De acuerdo a los resultados obtenidos podemos ver que la formula 3, es la que presenta la mejor liberación de fármaco sin embargo, esto no es indicativo de que la permeación a través de la piel, sea la mejor, de tal manera es importante decir que el fármaco es liberado de los vehículos, por lo que el paso limitante para que ocurra la permeación es la propia piel.

Es importante comentar que las formulas 2, 3, 9, 10 y 11 presentan una liberación mayor con respecto a las referencias 1 y 2, ya que estos últimos presentan excipientes los cuales son hidrofobicos, por lo que el fármaco tiene una mayor afinidad por el vehículo que por el medio receptor.

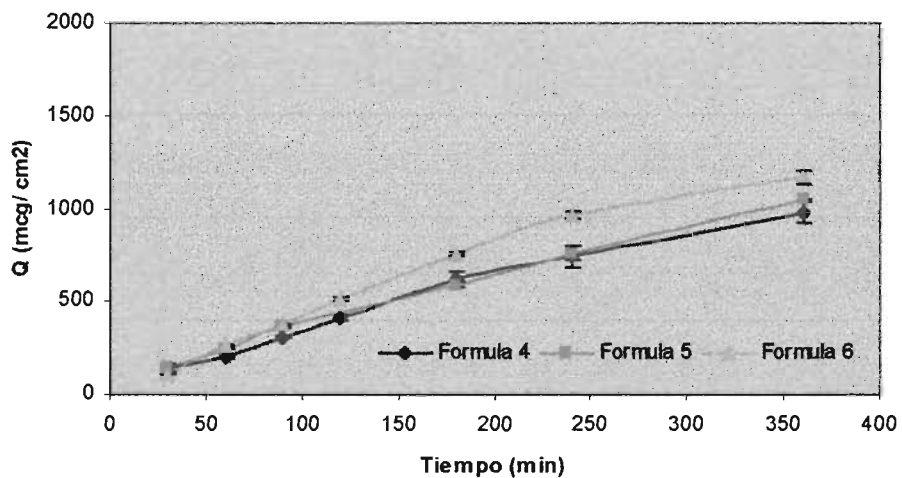
Las pruebas de permeación con membranas limitantes evaluaron el efecto de diferentes promotores y a continuación se presentan los resultados obtenidos.

Prueba de Permeación para Geles con Promotores de la Penetración a Diferentes Concentraciones

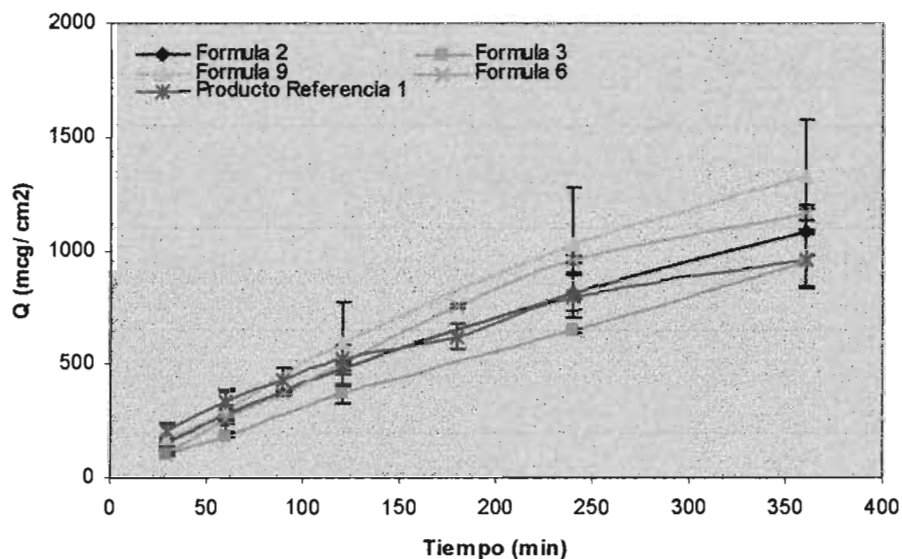
Pruebas con Promotor 3



Pruebas con Promotor 2



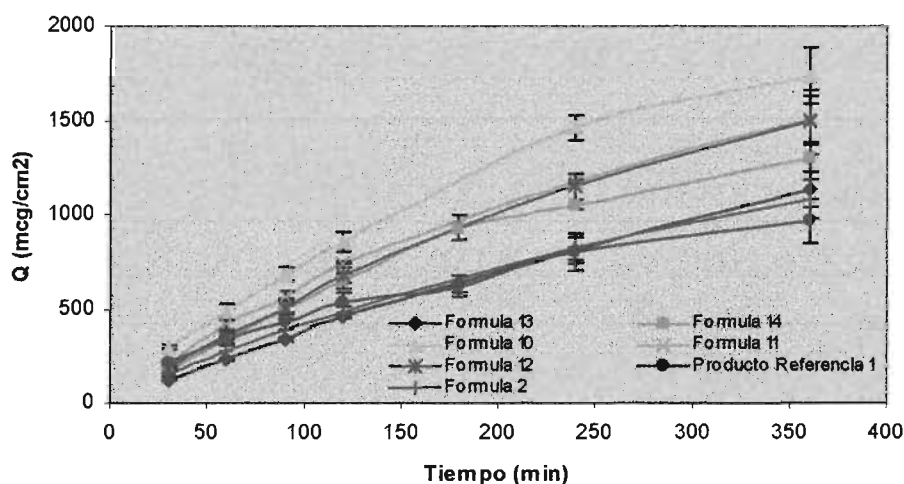
Prueba de Permeación de Geles con Diferentes Promotores de la Penetración



Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min 0.5)
Evaluación de Concentración y Promotores Solos	Gel	Formula 7	62.817
		Formula 8	65.581
		Formula 9	77.277
		Formula 4	65.888
		Formula 5	66.716
		Formula 6	82.591
Referencia	Referencia 1	-	55.941

El efecto de la concentración del promotor 2 y promotor 3 en la permeación del fármaco nos muestra que a mayor concentración del promotor, hay ligeros incrementos en la permeación del fármaco, dichos incrementos son el resultado de que la cantidad de promotor que es capaz de sufrir un proceso de partición en la membrana es mayor, de tal manera que el flujo de fármaco hacia el medio receptor es mayor, como resultado del aumentó de la solubilidad del fármaco en la membrana lo que conlleva a que se presente una mayor difusión del fármaco hacia el medio receptor.

Pruebas de Permeación con Mezclas de Promotores de la Penetración



Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min 0.5)
Combinación de Promotores	Gel	Formula 13	75.580
		Formula 14	86.484
		Formula 10	111.840
		Formula 11	97.067
		Formula 12	99.170
	Gel	Formula 2	69.013
Referencia	Referencia 1	-	55.941

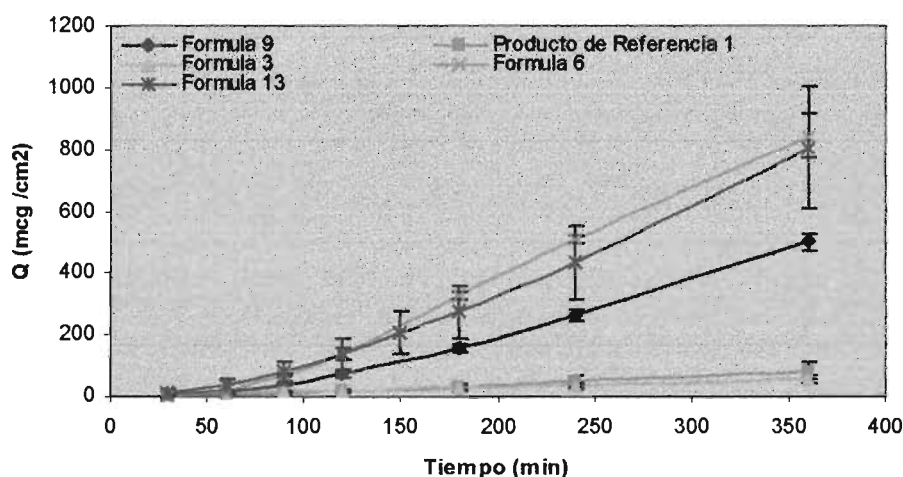
El flujo de fármaco a través de las membranas limitantes, se observa que es retardado cuando el promotor empleado es hidrofílico ya que la naturaleza de la membrana fue modificada al impregnarla con miristato de isopropilo, este es incapaz de sufrir un proceso de partición en la membrana, lo cuál también se observaría en el estrato corneo; sin embargo, este promotor hidrofílico podría tener un impacto importante en el transporte del fármaco en el vehículo, por lo que jugaría un papel importante en la permeación del fármaco a través de la piel. Los promotores hidrofóbicos sufren un proceso de partición en la membrana de tal manera que las moléculas de los promotores, facilitan la difusión del fármaco a través de la membrana, lo cuál no sucede con los promotores hidrofílicos los cuales no pueden difundir a la membrana y ejercer un efecto a través de ella. Así mismo se

puede observar que en los casos en los cuales se tiene una combinación de promotores hidrofílicos e hidrofóbicos, mejora la permeación de fármaco a través de la membrana, el efecto del promotor hidrofóbico en la membrana crea probablemente canales, a través de los cuales el promotor hidrofílico puede funcionar como acarreador mejorando el flujo. De acuerdo a los resultados obtenidos podemos observar que las formulas desarrolladas presentan una permeación mejorada con respecto al producto de referencia.

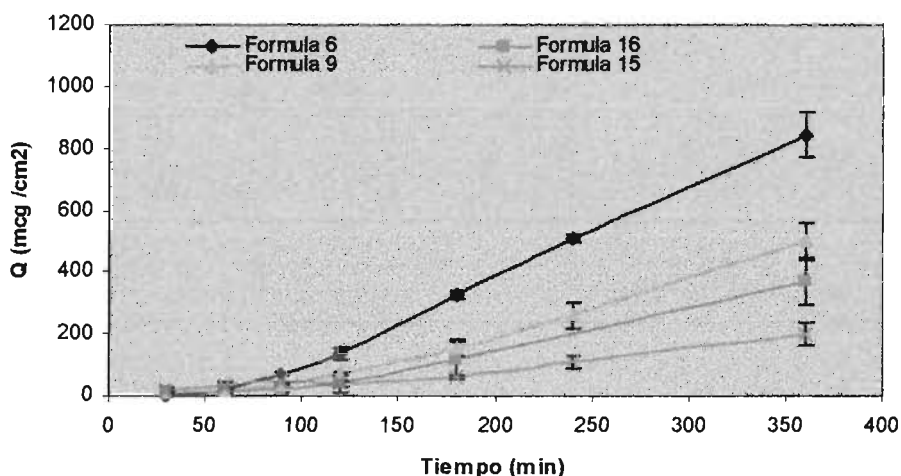
Es importante comentar que en el caso de las membranas limitantes no se presenta un periodo de latencia, siendo este importante en los sistemas in vivo, ya que una vez que se ha terminado esta fase, el flujo de fármaco es constante alcanzándose concentraciones de fármaco importantes para ejercer su efecto en el sitio afectado. Esta fase de latencia es característica para las membranas de tipo biológico por lo que los resultados de estas pruebas no reflejan el comportamiento del fármaco, no siendo un modelo adecuado para evaluar la permeación del fármaco en vez de la piel humana.

De acuerdo a las pruebas realizadas las formulas (4-14), presentan una permeación mejorada con respecto a la referencia 1 en una mayor o menor proporción, de tal manera que se procedió a evaluar la permeación del fármaco a través de piel de cerdo.

Prueba de Permeación para el Gel con Diferentes Promotores de la Penetración



Prueba de Permeación para Geles con Promotores de Penetración y un Aromatizante



Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² / min)	Tiempo de Latencia (min)	F _D
Promotores Solos con y sin Aromatizante	Gel	Formula 9	1.724	78.174	1.222
		Formula 3	-	-	-
		Formula 6	2.909	68.210	1.067
		Formula 15	0.763	95.827	1.498
		Formula 16	1.363	87.988	1.376
Combinación de Promotores	Gel	Formula 13	2.804	76.988	1.204
Referencia	Referencia 1	-	0.283	63.953	1.000

Los estudios con diferentes promotores de la penetración nos indican que el promotor 3 y la combinación del promotor 2 y 3, son los más efectivos, incrementando la permeación del fármaco a través de la piel, de acuerdo con estos resultados los promotores que son capaces de mejorar la partición del fármaco en el estrato corneo son más efectivos que el promotor 1, al cual debido a su tamaño y su alto peso molecular no puede penetrar en la piel más que solo en condiciones especiales, las cuales no fueron probadas durante los experimentos, y el efecto acarreador que tiene, al cuál se le atribuyen sus propiedades promotoras, no tiene un efecto sobre la piel, y por ende sobre la permeación del fármaco.

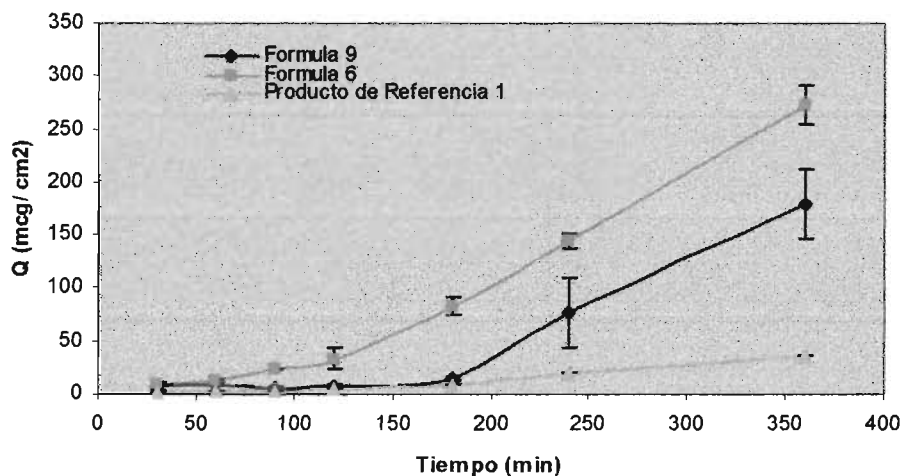
Es así que aunque la liberación del fármaco fue mayor para la formula 3, el efecto de los promotores 2 y 3 en la piel es mayor, por lo que el paso limitante para que se lleve a cabo la permeación del fármaco, es el estrato corneo y no la liberación del fármaco del vehículo, confirmándose lo antes mencionado. Por otra parte al comparar los flujos de fármaco obtenidos con membranas limitantes con los conseguidos con la piel de cerdo, nos podemos dar cuenta que estos son diferentes, siendo mucho mayores los que se observan con las membranas limitantes, sin embargo si se comparan las tendencias podemos observar que son muy semejantes. A continuación se presentan tales tendencias:

Tipo de Membrana	Tendencia de Formulas (con respecto al Flujo)
Limitantes	Formula 6> Formula 9>Formula 13>Formula 3
Piel de Cerdo	Formula 6> Formula 13>Fomula 9>Fomula 3

Por otro lado se puede comentar que la inclusión de otro excipiente (aromatizante) en la formula afecta la permeación del fármaco, de tal manera que actúa como un retardador de la penetración.

Los promotores incluidos en las formulas 6, 9 y 13 han mejorado la permeación del fármaco a través de la piel, con respecto a la referencia 1, por lo que los resultados obtenidos con la piel de cerdo y las membranas limitantes fueron corroborados con piel humana. Los resultados con piel humana obtenidos a continuación se presentan.

Pruebas de Permeación para Geles con Diferentes Promotores



Factor Evaluado	Producto	Variable	Flujo (mcg / cm ² min)	Tiempo de Latencia (min)	F _D
Promotores Solos	Gel	Formula 9	0.859	150.384	1.701
		Formula 6	1.055	101.654	1.151
Referencia	Referencia 1	-	0.133	88.282	1.000

Las pruebas con piel humana nos corroboran el comportamiento observado con la piel de cerdo. La fórmula 6, con el promotor 3 el cuál es un promotor de la penetración hidrofóbico, presenta el mejor flujo de fármaco a través de la piel humana. Así mismo podemos observar que en el caso de la piel humana se puede distinguir más claramente cuál de los promotores ejerce un mayor efecto en la piel promoviendo la penetración del fármaco en ella más eficazmente, lo cual no se observaba en las pruebas con piel de cerdo. Aunque el promotor 2 y 3 tienen el mismo mecanismo a través del cuál se cree ejercen su efecto promotor, probablemente el promotor 3 modifica más eficazmente la solubilidad del fármaco en la piel.

Así mismo se puede observar que los vehículos desarrollados nos permiten tener una permeación mejorada con respecto al producto de referencia, lo cuál se observó en las pruebas con membranas limitantes y con piel de cerdo, confirmándose los resultados con

las pruebas realizadas con piel de humana, para las condiciones en las cuales se llevaron las pruebas a cabo; sin embargo, sería interesante evaluar la permeación del fármaco, en condiciones no oclusivas ya que finalmente es así, como se aplica este producto en particular.

Aunque la composición lipídica de la piel humana es muy similar a la piel de cerdo, las diferencias nos dejan entrever que la piel humana es una barrera más eficaz que la piel de cerdo.

CONCLUSIONES

La evaluación de la liberación y permeación de un fármaco a través de la piel de diferentes sistemas semisólidos, permitieron elegir el vehículo más adecuado para obtener un producto con una permeación mejorada frente al producto líder, el cuál es estable físicamente, de acuerdo a los resultados de la estabilidad preliminar.

Las pruebas de liberación y permeación brindan información útil al investigador farmacéutico, para diseñar sistemas de uso tópico efectivos, al considerar, algunas características importantes inherentes a la piel como es, la de ser una barrera, la cual pone en riesgo el efecto terapéutico de un fármaco al no alcanzarse las concentraciones adecuadas para ejercer su actividad terapéutica. Dichas pruebas nos ofrecen la perspectiva de evaluar el efecto que pueden tener los diferentes excipientes sobre la biodisponibilidad de un fármaco que se pretende que ejerza su efecto terapéutico en los tejidos adyacentes a la piel.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Gupta P., Garg S. Recent Advances in Semisolids Dosage Forms for Dermatological Application. *Pharmaceutical Technology*. March, 2002, pp. 144-162
- [2] Garg A., Aggarwal D., Garg S., Singla, A. Spreading of Semisolid Formulations An Update. *Pharmaceutical Technology*. September, 2002. pp. 84-105
- [3] USP 26, 2003.
- [4] FEUM 7 edición
- [5] BP 2003
- [6] *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*. 2ª edición, 1st Volume. Edited Lieberman, H., Rieger, M., Banker, G. Marcel Dekker, Inc., 1996 pp. 399-419
- [7] Ansel, H., Allen, L., Popovich, N. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 7th Edition, 1999 Lippincott Williams & Wilkins.
- [8] Chrai, S., Murari, R., Ahmad, I. Liposomes : A Review Part I : Manufacturing Issues. *Pharmaceutical Technology*, April, 2002.
- [9] Smith, E., Maibach, H. *Percutaneous Penetration Enhancers*. CRC Press
- [10] Walters, K., Hadgraft, J. *Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement*. Marcel Dekker.
- [11] Betageri, G., Jenkins, S., Parsons, D. *Liposome Drug Delivery Systems*. Technomic Publishing Company Corporation, 1993
- [12] Weiner, N., Martin, F., Riaz, M. Liposomes as a Drug Delivery System. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 15 (10), 1523-1554 (1989).
- [13] *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*. 1ª edición., Vol.2, Edited Lieberman, H., Rieger, M., Banker, G. Marcel Dekker, Inc., 1996 pp. 399-419
- [14] Hoar, T.P. and Schulman, J.H. (1943). Transparent water-in-oil dispersions: The olephatic hydro-micelle. *Nature* 152:102.
- [15] Danielson, I., Lindman, B. (1981). The definition of Microemulsion. *Colloids Surf.* 3: 391
- [16] Bergstrand, N. (2003). *Liposomes for Drug Delivery: from Physico- Chemical Studies to Applications*. Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries to Uppsala Dissertation form the Faculty of Science of Technology 826. 71 pp. Uppsala. ISBN 91-554-5592-1.
- [17] Tyle, P. *Specialized Drug Delivery Systems: Manufacturing and Production Technology*. Volume 41, Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Marcel Dekker.

- [18] Granda, D., Diduk, N. Los liposomas en dermatología. Rev. Cubana Farm 30 (2), 1997.
- [19] Quintanar, D. Taller sobre Tecnología de Emulsiones. Centro de Desarrollo CANIFARMA, 2003.
- [20] Martin, A. Physical Pharmacy. Fourth Edition. Williams & Wilkins.
- [21] Rhee, Y., Choi, J. Park, E., Chi, S. Transdermal Delivery of Ketoprofen Using Microemulsions. International Journal of Pharmaceutics 228 (2001) 161-170.
- [22] Peltola S., Saarinen- Savolainen P., Kiesvaara, J., Suponen, T., Urtti, A. Microemulsions for Topical Delivery of Estradiol. International Journal of Pharmaceutics 254 (2003) 99-107.
- [23] González, M. Curso Taller sobre Microemulsiones (Aspectos Teóricos para el Desarrollo del Control de Calidad en Sistemas Microemulsionados), Centro de Desarrollo CANIFARMA, 2003.
- [24] Von Corsswant, C. Microemulsions for Use as Vehicles for Administration of Active Compounds. United States Patent US 6, 602, 511 B2, Aug. 5, 2003.
- [25] Washington, C. Drug Release from Microdisperse Systems: a Critical Review. International Journal of Pharmaceutics 58 (1990) 1-12.
- [26] Brittain H.G. et. al.; Physical Characterization of Pharmaceutical Excipients: Practical Examples; Pharmaceutical Technology; 15(10), 38 (1991).
- [27] Garg, A., Aggawal, D., Garg, S., Singla, A. Spreading of Semisolid Formulations An Update. Pharmaceutical Technology, September 2002.
- [28] Ross H. M., Romrell J. L., Kaye I. G. Histología Texto y Atlas Color. Medica Panamericana, 1995 pp 368-388
- [29] Leeson S. T., Leeson R., Paparo A. A. Texto/ Atlas de Histología. Mc Graw Hill, 1988 pp 364- 391
- [30] Finn G. Histología sobre bases biomoleculares. Medica Panamericana, 2000 pp 445-464
- [31] Barry B. W. Dermatological Formulations, Marcel Dekker, New York, NY, 1983 pp 1- 20
- [32] Guy H. R., Houk J. Membrane Models for Skin Penetration Studies. Chemical Reviews 88 (1988) pp 455-471
- [33] Bronaugh R. L., Maibach H. I. Percutaneous Absorption: Drug- Cosmetics- Mechanism- Methodology, Marcel Dekker, New York, NY, 1999 pp 515-522

- [34] Moser K., Kriwet K., Naik A., Kalia Y. N., Guy R. H. Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52 (2001) pp 103-112
- [35] López C. M., Piñón S. E., Quintanar G. D., Ganem Q. A. (2000). La Técnica del Tape Stripping como Método para Estudiar la Penetración de Sustancias en la Piel. IX Congreso Nacional de Química Cosmética; *Química Cosmética 2000, Una Mirada al Futuro*. Sociedad de Químicos Cosmetólogos de México, A.C. p 67-68
- [36] Barr, M. (1962). Percutaneous Absorption. *J. Pharm. Sci.* 51:395-408
- [37] Williams, A., Barry, B. Terpenes and the Lipid-Protein-Partitioning Theory of Skin Penetration Enhancement. *Pharmaceutical Research*, 8 (1), 17-24, (1991)
- [38] Godwin, D., Michniak, B. Influence of Drug Lipophilicity on Terpenes as Transdermal Penetration Enhancers. *Drug development and Industrial Pharmacy*, 25 (8), 905-915 (1999)
- [39] *Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement*. Edited by Walters, K. Hadgraft, J., Marcel Dekker, Inc. pp 95-111
- [40] *Percutaneous Penetration Enhancers*. Edited Smith, E. Maibach, H., CRC Press, 1995 pp 309-321, 335-342
- [41] Sinha, V., Pal Kaur, M. Permeation Enhancers for Transdermal Drug Delivery. *Drug development and Industrial Pharmacy*, 26 (11), 1131-1140 (2000)
- [42] Lofsson, T. Frionksdóttir, H., Ingvarsdóttir, G. Jónsdóttir, B., Siguroardóttir, A. The influence of 2- Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin on Diffusion Rates and Transdermal Delivery of Hydrocortisone. *Drug development and Industrial Pharmacy*, 20 (9), 1699-1708 (1994)
- [43] Másson, M., Loftsson, T., Másson, G., Stefánsson, E. Cyclodextrins as permeation enhancers: some theoretical evaluations and in vitro testing. *Journal of Controlled Release*, 59, 107-118 (1999)
- [44] Ghosh, T., Banga, A. Methods of Enhancement of Transdermal Drug Delivery: Part IIA, Chemical Permeation Enhancers. *Pharmaceutical Technology*. April 1993
- [45] Ghosh, T., Banga, A. Methods of Enhancement of Transdermal Drug Delivery: Part IIB, Chemical Permeation Enhancers. *Pharmaceutical Technology*. May 1993
- [46] Hadgraft, J. Passive Enhancement strategies in topical and Transdermal Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 184 (1999) 1-6.
- [47] Goosen, C., du Plessis, J., Müller, G., Janse van Rensburg, F. Correlation between physicochemical characteristics, pharmacokinetic properties and transdermal absorption of NSAID's. *International Journal of Pharmaceutics* 163 (1998) 203-209

- [48]Beetge, E., du Plessis, J., Müller, G., Goosen, C., Janse van Rensburg, F. The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption. *International Journal of Pharmaceutics* 193 (2000) 261-264
- [49]Guy, R., Hadgraft, J. Percutaneous Penetration Enhancement: Physicochemical Considerations and Implications For Prodrug Design. *Clin. Research & Reg. Affairs* 18 (3), 219-233 (2001)
- [50]Ho, H., Huang, F., Sokoloski, T., Sheu, M. The Influence of Cosolvents on the In-Vitro Percutaneous Penetration of Diclofenac Sodium From a Gel System. *J. Pharm. Pharmacol.* 1994, 46: 636-642
- [51]Caspers, P., Williams, A., Carter, E., Edwards, G., Barry, B., Bruining, H., Puppels, G. Monitoring the Penetration Enhancer Dimethyl Sulfoxide in Human Stratum Comeum in Vivo by Confocal Raman Spectroscopy. *Pharmaceutical Research*, Vol.19, No. 10, October 2002
- [52]Wiechers, J., Drenth, B., Jonkman, J., Zeeuw, R. Percutaneous Absorption and Elimination of the Penetration Enhancer Azone in Humans. *Pharmaceutical Research*, Vol. 4, No. 6, 1987
- [53]Naik, A., Pechtold, L., Potts, R., Guy, R. Mechanism of Oleic Acid- Induced skin penetration enhancement in vivo in humans. *Journal of Controlled Release* 37 (1995) 299-306
- [54]Wong, ., Guu, Y., Wang, M., Wang, D. Percutaneous Transport of Diclenac Sodium from Mixtures of Fatty Alcohol (or Fatty Acid) and Propylene Glycol Through the Rabbit Abdominal Skin. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 25 (11), 1209-1213 (1999)
- [55]Ashton, P., Walters, K., Brain, Hadgraft, J. Surfactants Effects in Percutaneous Absorption II.Effects on Protein and Lipids Structure of the Stratum Comeum. *International Journal of Pharmaceutics* 87 (1992) 265-269
- [56]Ashton, K., Walters, K., Hadgraft, J. Effects of Surfactants in Percutaneous Absorption. *Departament of Pharmacy, University of Nottingham, University Park, Nottingham NG7 2RD UK*
- [57]Asbill, C., Michniak, B. Percutaneous Penetration Enhancers: Local versus Transdermal Activity. *PSTT* Vol. 3, No. 1 January 2000
- [58]Friend, D. R., In vitro skin permeation techniques, *Journal of Controlled Release*, 18 (1992) 235-248

- [59]. Schmook, F. P., Meingassner, J. G., Billich, A., Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in –vitro percutaneous absorption, *International Journal of Pharmaceutics* 215 (2001) 51-56.
- [60] Guidance for Industry: SUPAC-SS Nonsterile Semisolid Dosage Forms. Scale- Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; In Vitro Release Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, May 1997.
- [61] Corbo, M., Schultz, T. W., Wong, G. K., Van Buskirk, G. A., Development and Validation of In Vitro Release Testing Methods for Semisolid Formulations, *Pharmaceutical Technology*, 17 (9) 1993, 112-128
- [62] Mendoza, L., Nava, G., Quintanar, D., Villalobos, R., Ganem, A. Penetración y/ o Absorción de Fármacos a Través de la Piel. *Técnicas de Evaluación. Informaceutico*. Vol. 10 No.2 Mayo 2003. AFM
- [63] Siewert, M., Dressman, J., Brow, C., Shah, V. FIP/ AAPS Guidelines for Dissolution/ In Vitro Release Testing of Novel/ Special Dosage Forms. *Dissolution Technologies*. Vol 10, Issue 1, 2003
- [64] Shan, V., Siewert, M., Dressman, J., Moeller, M., Brown, C. Dissolution/ In Vitro Release Testing of Special Dosage Forms. *Dissolution Technologies*. Vol 9, Issue 1, 2002
- [65] Marcovich, R. Dissolution Testing of Semisolid Dosage Forms. *American Pharmaceutical Review*. www.Americanpharmaceuticalreview.com/past_articles/2_APR_Summer_2001/Marcovich_article.html
- [66] Thakker, K., Chem, W. Development and Validation of In Vitro Release Test for Semisolid Dosage Forms- Case Study. *Dissolution Technologies*. Vol 10, Issue 2, 2003
- [67] Bronaugh, R., Stewart, R., Simon, M. Methods for In Vitro Percutaneous Studies VII: Use of Excised Human Skin. *Journal Pharmaceutical Sciences* Vol 75, No 11, November 1986
- [68] Shan, V., Elkins, J., Hanus, J., Noorizadeh, C., Skelly, J. In Vitro Release of Hydrocortisone from Topical Preparations and Automated Procedure. *Pharmaceutical Research*, Vol 8, No 1, 1991

- [69] Bronaugh, R., Stewart, R. Methods for In Vitro Percutaneous Absorption Studies VI: Preparation of the Barrier Layer. *Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol 75, No 5, May 1986
- [70] Storm, G., Crommelin, J., Bos, G. Liposomes Successful Carrier Systems for Targeted Delivery of Drugs. *Drug Delivery Peptides, Proteins and Liposomes*. Utrecht Institute for Pharmaceutical Sciences (UIPS), Utrecht University.
- [71] Qvist, M., Hoeck, U., Kreilgaard, B., Madsen, F., Frokjaer, S. Evaluation of Gottingen Minipig Skin for Transdermal in Vitro Permeation Studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 11 (2000) 59-68
- [72] Guidance for Industry. SUPAC-SS: Nonsterile Semisolid Dosage Forms. Manufacturing Equipment Addendum. Center for Drug Evaluation and Research. FDA, 1998
- [73] Perry. *Manual del Ingeniero Químico*. 6ª Edición. 1992
- [74] Carstensen, J. *Drug Stability Principles and Practices*. Volume 43, 1990. Marcel Dekker Inc.
- [75] www.hansonresearch.com
- [76] www.fmcbiopolymer.com
- [77] Kawakami, K., Yoshikawa, T., Moroto, Y., Kanaoka, E., Takahashi, K., Nishihara, Y., Masuda, K. Microemulsion Formulation for Enhanced Absorption of Poorly Soluble Drugs. *Prescription Design. Journal of Controlled Release* 1 (2002)
- [78] Loftsson, T., Masson, M. Cyclodextrins in Topical Drug Formulations: Theory and Practice. *International Journal of Pharmaceutics* 225 (2001) 15-30
- [79] Kirjavainen, M., Monkkonen, J., Saukkosaari, M., Valjakka-Koskela, R., Kiesvaara, J., Urtti, A. Phospholipids affect stratum corneum lipid bilayer fluidity and drug partitioning into bilayers. *Journal Controlled Release* 58 (1999) 207- 214