

1  
25



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

ESTUDIO DEL TRANSPORTE DE SUSTANCIAS POR VIA  
CUTANEA O MUCOSAL.

ESTUDIO DEL EFECTO PROMOTOR DE AZONA Y  
4-DECILOXAZOLIDIN-2-ONA SOBRE LA  
ABSORCION PERCUTANEA DE TRES FARMACOS  
CON DIFERENTES CARACTERISTICAS DE  
LIPOFILICIDAD.

**INFORME DE SERVICIO SOCIAL**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**  
**P R E S E N T A :**  
**JUANA ACEVEDO PEÑA**

ASESORA: DRA. ADRIANA GANEM RONDERO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

1999

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

271672



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.



GOBIERNO NACIONAL  
SISTEMA DE  
ESTADOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. V.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES  
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTAÑAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

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

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de:  
Informe de Servicio Social Titulación: Estudio del Transporte de Sustancias por Vía Cutánea o Mucosal. Estudio del Efecto Promotor de Azona y 4-deciloxazolidin-2-ona sobre la Absorción Percutánea de tres Fármacos con diferentes Características de Lipofilicidad  
que presenta la pasante: Juana Acevedo Peña  
con número de cuenta: 9106293-6 para obtener el TÍTULO de:  
Química Farmacéutica Bióloga

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

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de Noviembre de 199 8

PRESIDENTE

Dra. Adriana Ganem Rondero

VOCAL

M.en C. Efrén Hernández Baltazar

SECRETARIO

Q.F.B. Cecilia Hernández Barba

PRIMER SUPLENTE

M.en C. Rafael Villalobos García

SEGUNDO SUPLENTE Q.F.B. Sergio Galindo Rodríguez

A mis padres, Plácido Acevedo C. y Graciela Peña S. , por todo el amor y confianza que siempre han tenido en mí y por la gran oportunidad que me han brindado para alcanzar mis sueños.

Con gran cariño a mis hermanos:

Rafael, Celina, Carmen, Margarita, Alicia, Ofelia, Lourdes y Lucy por el apoyo que me han brindado toda mi vida para seguir adelante.

A todos los profesores de la FES Cuautitlán que durante mi formación académica me brindaron lo mejor de sus conocimientos.

A la Dra. Adriana Ganem Rondero por la valiosa ayuda y el gran apoyo brindado para la elaboración de este trabajo.

# INDICE

	Página
Indice de tablas .....	1
Indice de figuras .....	2
Lista de abreviaturas .....	4
RESUMEN .....	6
1. INTRODUCCIÓN	
I. LA PIEL	
a) Características generales .....	7
b) Funciones .....	8
c) Morfología .....	9
d) Papel como barrera de protección .....	13
d1. Localización de la barrera .....	14
d2. Formación de la barrera de permeabilidad.....	16

## II . PROMOTORES DE ABSORCIÓN CUTÁNEA

a) Definición de promotor.....	17
b) Promotores más comúnmente utilizados	
b1. Clasificación de los promotores .....	20
b2. Mecanismos de acción de los promotores .....	21
c) Azona	
c1. Características fisicoquímicas .....	28
c2. Mecanismo de acción .....	29
d) 4-deciloazolidin-2-ona (Dermac SR-38) : un nuevo promotor de absorción	
d1. Características fisicoquímicas .....	31
d2. Estudios de permeación .....	32

## III . PRINCIPIOS DE LA PERMEACIÓN

a) La ley de Fick .....	33
b) Tipos de dispositivos .....	36
c) Modelos animales.....	40

**IV. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE**

**LOS FÁRMACOS UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO**

a) 5-Fluorouracilo .....	42
b) Cafeína .....	43
c) Ibuprofeno .....	45
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>46</b>
<b>3. CUADRO METODOLÓGICO .....</b>	<b>48</b>
<b>4. DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES</b>	
4.1. Actividades .....	49
4.2. Cronograma de actividades .....	50
4.3 . Metodología	
4.3.1 Materiales y reactivos	
a) Reactivos .....	51
b) Aparatos y equipos .....	52



4.3.2 Métodos.

a) Obtención del tejido animal .....	53
b) Curvas de calibración .....	53
c) <b>Determinación de solubilidad</b> .....	54
d) Pruebas de interacción y/o interferencia de los componentes de la membrana .....	54
e) Condiciones experimentales para las permeaciones sin y con promotor. ....	55

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 Curvas de calibración de los principios activos en solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4 con y sin membrana .....	56
5.2 <b>Determinación de solubilidad</b> .....	59
5.3 Cinética de las permeaciones sin promotor .....	60
5.4 Cinética de las permeaciones de 5-Fluorouracilo .....	51
5.5 Cinética de las permeaciones de Cafeína .....	63
5.6 Cinética de las permeaciones de Ibuprofeno .....	65

	Página
6. CONCLUSIONES .....	72
7. RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS .....	73
8. REFERENCIAS .....	75
9. ANEXO	
I. RESULTADO DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS TRES PRINCIPIOS ACTIVOS.....	81
II. RESULTADOS DE LAS PERMEACIONES DE LOS TRES PRINCIPIOS-ACTIVOS .....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

<u>No. de tabla</u>	<u>Título</u>	<u>Página</u>
1	Composición (%peso) de lípidos de la piel	18
2	Resultados de la regresión lineal de las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo con y sin membrana	56
3	Resultados de la regresión lineal de las curvas de calibración de Cafeína con y sin membrana	57
4	Resultados de la regresión lineal de las curvas de calibración de Ibuprofeno con y sin membrana	58
5	Resultados de solubilidad	59
6	Flujos (J) y factor de promoción (FP) de los tres principios activos con y sin promotor	68
7	Constantes experimentales de permeación	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

<u>No. de figura</u>	<u>Título</u>	<u>Página</u>
1	Vista tridimensional de la piel	9
2	Esquema de las capas de la piel	10
3	Ilustración de los cambios estructurales de las células epiteliales	11
4	Efecto de la composición sobre la fluidización de la bicapa lipídica	23
5	Modelos de la estructura intercelular, incluyendo proteínas	25
6	Mecanismo de acción del decilmetilsulfóxido	26
7	Efecto del agua sobre el estrato córneo	26
8	Microrutas de penetración de acceso al estrato córneo	27
9	Mecanismo de acción de Azona	31
10	Celda de difusión	35
11	Celda simple de difusión de Aguiar y Weiner	38
12	Celda de Wurster	38
13	Celda de difusión vertical	39
14	Celda de difusión horizontal	39
15	Curvas de calibración de 5-Fluorouracilo	57
16	Curvas de calibración de Cafeína	57
17	Curvas de calibración de Ibuprofeno	58
18	Cinética de permeación de los tres principios activos sin promotor	60
19	Cinética de permeación de 5-Fluorouracilo a través de piel de cerdo n=5 +/- s	61
20	Cinética de permeación de Cafeína a través de piel de cerdo n=5 +/- s	64

21	Cinética de permeación de Ibuprofeno a través de piel de cerdo n=5 +/- s	67
22	Gráfica de cantidad acumulada en el compartimento receptor a las 24 hrs n=5 +/- s	69
23	Gráfica de cantidad de principio activo retenido en la membrana al final de la permeación n=5 +/- s	69

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
$\lambda_{\max}$	longitud de onda de máxima absorción
5-FU	5-Fluorouracilo
Caf	Cafeína
CV	coeficiente de variación
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DCMS	decilmethylsulfóxido
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
DSS	dietilsulfóxido de sodio
FP	factor de promoción
GLC	Cromatografía líquido-gas
H <sub>n</sub>	transición gel → hexagonal
HPLC	cromatografía de líquidos de alta resolución
Ib	Ibuprofeno
IR	espectroscopia de infrarojo
ml	militros
nm	nanómetros
°C	grados Centígrados
pe	punto de ebullición
pf	punto de fusión
PG	propilenglicol

pKa	logaritmo de la constante de acidez
pm	peso molecular
rpm	revoluciones por minuto
SBIF	solución buffer isotónica de fosfatos
t <sub>L</sub>	tiempo de latencia
T <sub>M</sub>	temperatura de transición vítrea
UV	espectroscopia ultravioleta

## RESUMEN

Aún cuando la piel es una barrera natural de protección al medio ambiente y no permite la penetración de sustancias extrañas, actualmente se han logrado desarrollar formas farmacéuticas de aplicación tópica con gran éxito, empleando para ello sustancias llamadas promotores, las cuales favorecen la penetración de fármaco a través de la piel, para permitirle llegar a los tejidos o a sistema circulatorio sin verse afectados por el efecto del primer paso hepático.

En el presente trabajo se realizaron estudios de permeación a través de piel de oreja de cerdo, como modelo animal, con la finalidad de comparar la acción de un promotor de nueva creación, el 4-deciloxazolidin-2-ona (Dermac SR-38<sup>®</sup>), con la de la Azona<sup>®</sup>, una sustancia cuyas propiedades promotoras han sido bien estudiadas. Así como comparar el efecto que se produce cuando se usa o no promotor.

Para lograrlo se utilizó el modelo de celda de Franz modificado, usando tres principios activos con diferentes características de lipofilicidad: Ibuprofeno (Ib), Cafeína (Caf) y 5-Fluorouracilo (5-FU). Como vehículo se empleó propilenglicol debido a sus bien conocidas propiedades sinérgicas al emplearse en combinación con Azona.

El efecto de los promotores sobre el flujo de los principios activos se estudió pretratando la piel con una solución del promotor en propilenglicol, la cual se sustituyó por la solución del fármaco. Como compartimento receptor se empleó una solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4, de la cual se tomaron muestras a tiempos determinados, reemplazando el volumen extraído con medio fresco, para elaborar la cinética de permeación.



Al final de la experiencia se cuantificó el principio activo acumulado en el tejido. Finalmente se evaluó el efecto del promotor y de las características fisicoquímicas del principio activo, comparando las cinéticas de permeación obtenidas.

El estudio de estos promotores ayudará no solo a aclarar su mecanismo de acción, sino también a probar otras moléculas que tengan potencial uso como promotores y a largo plazo crear mejores sistemas de aplicación tópica de mayor efectividad y menor toxicidad.

## 1.INTRODUCCIÓN

### I. LA PIEL

#### a) CARACTERÍSTICAS GENERALES

La piel es un complejo dinámico de células, glándulas, vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas (Figura 1). Siendo el órgano más grande del cuerpo, cuenta con una superficie aproximada de 2500 cm<sup>2</sup> en un recién nacido y 18000 cm<sup>2</sup> en un adulto, y pesa alrededor de 4.8 kg en el hombre y 3.2 kg en la mujer<sup>(1)</sup>.

Entre las características de la piel podemos enumerar que :

- \* es elástica,
- \* es áspera,
- \* es casi totalmente impermeable, y
- \* tiene capacidad regenerativa.

Sin embargo, la piel no está aislada, sino se encuentra acompañada de apéndices que son : pelo, uñas, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas<sup>(2)</sup>.

## b) FUNCIONES

La piel cumple, principalmente, las siguientes funciones<sup>(1,2,3)</sup> :

- **Sensación.** En la dermis hay receptores sensitivos específicos para dolor, tacto, temperatura y presión, de modo que los estímulos que recibe los transmite al sistema nervioso central.
- **Protección.** La piel es la primera línea de defensa química, mecánica y bacteriana. Forma una cubierta resistente que impide el paso de agentes físicos y químicos que son nocivos y retarda efectivamente la difusión de gases, agua y químicos e inhibe la pérdida excesiva de agua y electrolitos. También proporciona una protección a los golpes al actuar como cojín. Seca, la piel es altamente resistente al flujo de corriente eléctrica. Adicionalmente, la piel posee un manto ácido que protege su superficie de sustancias bacterianas e irritantes.
- **Termorregulación.** La cantidad de calor disipado o conservado es regulada por el control de flujo y contenido de sangre en los vasos cutáneos ; dicho calor se pierde por procesos de conducción, convección, evaporación y radiación, siendo éstos regulados por la activación nerviosa y química de las glándulas sudoríparas y por la dilatación/constricción de los vasos sanguíneos.
- **Secreción.** La piel secreta sebo y sudor ; el sebo es producido por glándulas sebáceas y posee propiedades antimicrobianas y antimicóticas que le permiten a la piel conservar su textura. El sudor es una secreción que ayuda a disminuir la temperatura corporal.



FIGURA 1. VISTA TRIDIMENSIONAL DE LA PIEL

### c) MORFOLOGÍA.

La piel se compone de tres capas : epidermis, dermis e hipodermis (Fig 2).

#### 1. Epidermis

Es la capa más externa de la piel, está compuesta de células epiteliales escamosas, estratificadas y no contiene vasos sanguíneos. Está formada por 40% proteínas, 40% agua y 20 % lípidos. Tiene un grosor aproximado de 0.1 mm<sup>(1,2)</sup>.

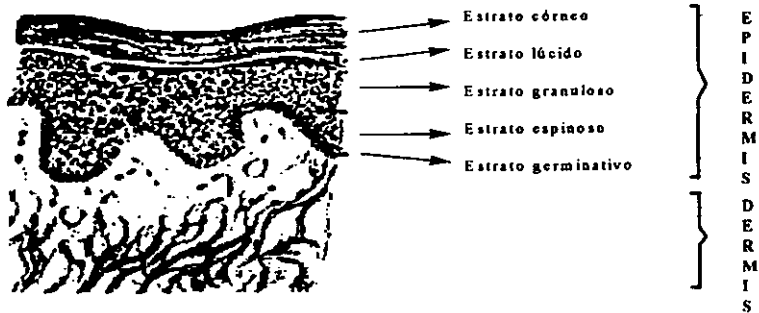


FIGURA 2. ESQUEMA DE LAS CAPAS DE LA PIEL <sup>(2)</sup>.

A su vez, está constituida por varias capas, las cuales, de la más profunda a la más superficial, son :

- Estrato basal ( o germinativo). Es una capa monocelular, continua, que da origen a los queratinocitos ; sus células son las únicas de la piel capaces de dividirse mitóticamente, dando origen a todas las capas externas de la epidermis, considerándosele por ello como la capa más importante de la piel. Sus células tienen núcleo grandes y organelos bien definidos. Contiene 70% de agua.
- Estrato espinoso. Es una capa de varias células poligonales en forma de puas, cuya apariencia se debe a los desmosomas de sus superficies. En la zona superior de este estrato aparecen los cuerpos lamelares o de Odland.
- Estrato granuloso. Formado de dos a cinco capas de células aplanadas que contienen gránulos basófilos de queratohialina. Este estrato es de transición.
- Estrato lúcido. Solo se reconoce en la palmas de las manos y las plantas de los pies ; tiene de una a cinco células de espesor y consta de células aplanadas, muertas o desvitalizadas, que por lo general han perdido sus núcleos.

- Estrato córneo. Es la capa más externa de la epidermis, cuyas células (queratinocitos) carecen de núcleo y organelos, incluyendo los gránulos de queratohialina, estando totalmente llenas de queratina y siendo aplanadas, parecidas a escamas. Sus células se desprenden constantemente y por tanto se van renovando. Este estrato contiene solo 20% de agua.

La estratificación de la epidermis se debe al cambio que se produce en el interior de los queratinocitos conforme ascienden de la capa basal al exterior, hasta llegar a la superficie de la piel. Esta diferenciación puede apreciarse claramente en la figura 3<sup>(1,2)</sup>.

El tiempo de reemplazamiento para la epidermis viva es de aproximadamente 42 días y para el estrato córneo de 14 días<sup>(2)</sup>.

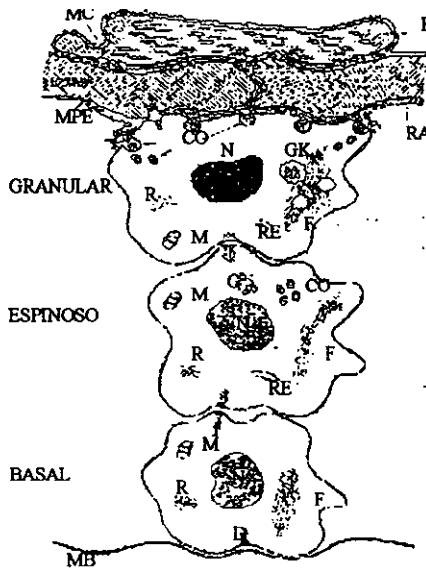


FIGURA 3. ILUSTRACIÓN DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES DE LAS CÉLULAS EPITELIALES<sup>(4)</sup>.

MB- membrana basal, D - desmosoma, F- filamento, N - núcleo,  
 M - mitocondria, RE - retículo endoplásmico, CO - cuerpos de Odland,  
 G - aparato de Golgi, GK - gránulos de queratohialina,  
 MPE - membrana plasmática, RA - revestimiento amorfo, MC - matriz córnea,  
 R- ribosomas.

## 2. Dermis

También llamada corión o piel verdadera, la dermis está situada por debajo de la epidermis, siendo su soporte mecánico. Se compone de tejido conectivo, conteniendo fibras elásticas y colágenas ; su grosor es aproximadamente de 0.3 a 0.5 mm.

La dermis se divide en dos capas : papilar y reticular. En la dermis se localizan las glándulas sebáceas y sudoríparas, así como los folículos pilosos, nervios y los órganos sensores de frío, calor, tacto y presión<sup>(1,2,3)</sup>.

Los vasos sanguíneos están difusamente distribuidos a través de la dermis y en una menor extensión en la grasa subcutánea (hipodermis)<sup>(5)</sup>.

## 3. Hipodermis

Esta capa está por debajo de la dermis y se compone solo de adipositos. Es tejido grasa subcutáneo cuya unión con la dermis es pobremente marcada y su espesor es variable.

La capa de grasa sirve como un cojín para el acomodo de los elementos de la piel y debido a su naturaleza flexible permite el desplazamiento lateral de la piel en muchas regiones del cuerpo<sup>(6)</sup>.

Los anexos o apéndices de la piel también son importantes ; algunas generalidades de ellos son las siguientes<sup>(2,3)</sup> :

⇒ Pelo. Cubre todo el cuerpo, excepto las palmas de las manos, las plantas de los pies y porciones de los genitales. Cada unidad de pelo está compuesta de tres partes : cutícula, corteza y médula. Contiene melanina, que es el pigmento que le da color.

⇒ Uñas. Son una modificación de las células epidérmicas cornificadas y se componen de queratina dura.

⇒ Glándulas sebáceas. Se originan de las paredes de los folículos pilosos y producen sebo.

Están presentes en todo el cuerpo, excepto en las palmas de las manos y plantas de los pies. La secreción sebácea contiene grasa, proteínas, agua, sales y remanentes de células epiteliales. El sebo previene a la piel y el cabello de secado y ruptura y preserva la integridad física de la piel.

⇒ Glándulas sudoríparas. Son glándulas tubulares simples que se encuentran casi en toda la piel, excepto en los bordes de los labios y el glande del pene. El sudor que secretan se compone de agua (99%), sales y trazas de urea. La cantidad de agua que se pierde es aproximadamente de 0.5 litros/día. Cada glándula consta de una porción secretoria y un conducto excretor ; la porción secretoria está localizada debajo de la dermis, en el tejido subcutáneo, en un tubo ciego torcido y enrollado en sí.

En la figura 1 pueden observarse la ubicación y morfología de los anexos mencionados, excepto la uña.

#### d) PAPEL COMO BARRERA DE PROTECCIÓN

Las barreras de permeabilidad están situadas en varias capas de células firmemente empaquetadas que forman la superficie de la epidermis ; la epidermis es impermeable, pero conforme se van eliminando progresivamente sus capas, la permeabilidad aumenta, de modo que las células córneas son quienes constituyen la principal barrera. El estrato córneo es una estructura densa con restricción espacial en ordenamiento y pliegues protéicos, con lípidos empaquetados que generan fuerzas intermoleculares que impiden el paso de moléculas a través de la piel<sup>(7,8)</sup>.

La mayor parte de la resistencia a la penetración y permeación de la piel es el estrato córneo, cuya membrana de 15 a 20  $\mu\text{m}$  de grosor consiste en bloques de matrices protéicas

citoplasmáticas, embebidas en una matriz lipídica extracelular. La mayoría de los lípidos del estrato córneo consisten en ceramidas y lípidos neutros tales como esteroides, ácidos grasos libres y triglicéridos, con pequeñas cantidades de glicoesfingolípidos, fosfolípidos y sulfato de colesterol.

En la tabla 1 se enlistan los lípidos que componen la piel de cerdo.

Aún con bajos niveles de fosfolípidos en la piel, es evidente que los lípidos del estrato córneo son capaces de formar bicapas, sugiriendo que el espacio intercelular consiste de líquidos laminares cristalinos, conteniendo lípidos saturados y constituyendo una barrera al agua y a permeantes solubles a ella<sup>(9)</sup>.

#### d1. LOCALIZACIÓN DE LA BARRERA

Fue hasta 1944 cuando se estableció que la barrera al agua que protege a los vertebrados de la desecación, se encuentra en el estrato córneo. Esto fue inicialmente demostrado por Winsor y Burch<sup>(17)</sup> quienes monitorearon el flujo de agua a través de piel abdominal humana y observaron que el flujo de agua aumentaba conforme iban removiendo progresivamente las células epidermales hasta llegar a las capas más bajas.

El papel del estrato córneo como barrera para prevenir la pérdida de agua fue corroborado por Blank<sup>(18,19)</sup>, quien usó cinta adhesiva para remover progresivamente las células del estrato córneo, viendo que la pérdida de agua no incrementaba hasta llegar a la capa más baja, concluyendo así que la barrera se localizaba en el fondo de la capa córnea.

Posteriormente, los descubrimientos de Blank fueron retomados por Scheuplein<sup>(20)</sup> para mostrar, matemáticamente, que se explicaba mejor con un modelo en el que las capas del estrato córneo tuvieran iguales propiedades de protección ; sin embargo, esta concepción no fue muy aceptada.



Sólo hasta principios de los sesentas <sup>(6)</sup>, con la introducción de la expansión alcalina de secciones congeladas, fue conclusivamente demostrado que el estrato córneo, para muchas regiones de la piel es una estructura altamente ordenada, formada por células hexagonales aplanadas y apiladas, con una zona estrecha de interdigitación en los bordes de las pilas adyacentes.

Actualmente se considera al estrato córneo como una cubierta compacta y altamente ordenada. Los estudios más recientes hacen referencia a experimentos con extracción de solventes, viéndose que los lípidos polares juegan un papel importante en la función de la barrera. Breathnach y cols <sup>(21)</sup> realizaron estudios utilizando la técnica de fractura por congelamiento, en los que se aclaró que los lípidos forman bicapas múltiples que llenan los espacios intercelulares, estando presentes en la capa córnea, siendo tales membranas intercelulares quienes proveen la barrera para el agua.

Scheiner y Wolf<sup>(22)</sup> fueron los primeros investigadores que usaron la proteína peroxidasa de rábano picante como marcador soluble en agua. Usando microscopía electrónica observaron que cuando la peroxidasa era inyectada intradérmicamente podía cruzar la lámina basal y difundir a través de espacios intercelulares, pero el movimiento era detenido en la unión entre el estrato granuloso y el córneo, donde el contenido de los gránulos lamelares había sido expulsado. Lo anterior también fue demostrado por Squier<sup>(23)</sup>, quien usó la misma proteína para monitorear el movimiento del agua en células epiteliales, encontrando que sólo penetraban en las capas periféricas del estrato córneo cuando eran aplicadas tópicamente. Estas observaciones, de acuerdo con Kligman's <sup>(24)</sup> sugieren que todas las capas del estrato córneo contribuyen a la protección.

Los anteriores resultados fueron confirmados más tarde por Elias y cols<sup>(25)</sup> usando sales de lantano como marcadores pequeños con alta densidad electrónica.

## d2. FORMACIÓN DE LA BARRERA DE PERMEABILIDAD

Las células córneas son delgadas y están acomodadas a manera de platos apilados, de modo que proveen una estructura rígida al ectoesqueleto de las células cornificadas, una oportunidad para la inserción de filamentos de queratina y una barrera altamente resistente al ataque de químicos externos. Además, en conjunto con los lípidos extracelulares, pueden regular la permeabilidad al agua de células cornificadas <sup>(6)</sup>.

La diferencia morfológica que hay en las capas de la epidermis es resultado de los diferentes estados en el proceso de diferenciación. En epitelios queratinizados, los lípidos que se acumulan con la maduración son empaquetados en pequeños organelos conocidos como cuerpos de Odland o gránulos lamelares, los cuales son formados en la región de Golgi; éstos aparecen en el estrato espinoso. Estos gránulos migran hacia la superficie de la célula, al empalme de la capas granular y cornificada en los tejidos queratinizados, y en la parte más profunda de las células superficiales en el caso de tejidos no queratinizados, en donde funden su membrana con la membrana celular. Durante la fusión, los cuerpos de Odland son introducidos dentro de la membrana plasmática de la célula epitelial y su contenido es expulsado al espacio extracelular entre los límites de las células superiores nucleadas y el estrato córneo, donde se transforman en láminas multilamelares que llenan los espacios extracelulares del estrato córneo; se cree que esto provee la barrera al agua <sup>(6,10)</sup>.

Estudios de microscopía electrónica han mostrado que el contenido de los gránulos lamelares o cuerpos de Odland consiste de líneas densas y claras, alternadas, que definen la lamela presente dentro de los gránulos. Aparentemente esta lamela forma una serie de discos y por su apariencia es posible que cada uno de ellos represente un liposoma desinflado. El comienzo de la barrera de permeabilidad ha sido localizado al nivel donde los gránulos lamelares expulsan su contenido; se ha establecido una relación entre los

anteriores y la permeabilidad asociando un mayor volumen de gránulos lamelares con una menor permeabilidad<sup>(10)</sup>.

Conforme las células epidermales migran de la capa basal, llegan a ser más largas, más lisas y acumulan adicionalmente fosfolípidos, colesterol, glicosilceramidas y ceramidas. Durante el curso de la diferenciación, los cambios dramáticos que ocurren en el contenido y composición de lípidos y queratinocitos son muy importantes, dando como resultado que la mayoría de los lípidos presentes sean ceramidas, colesterol, ácidos grasos, esteroides y sulfato de colesterol; los lípidos cambian de un carácter polar a una mezcla neutra, los fosfolípidos desaparecen y las glicosilceramidas son deglicosiladas<sup>(6,9,26)</sup>.

En los estados finales de diferenciación de epitelios queratinizados, una variedad de hidrolasas están envueltas en la modificación lipídica y maduración de la barrera. Un número de enzimas hidrolíticas se han asociado con los gránulos lamelares y se presume que son liberadas al espacio intercelular vía estos organelos<sup>(6)</sup>.

## **II. PROMOTORES DE ABSORCIÓN CUTÁNEA.**

### **a) DEFINICIÓN DE PROMOTOR**

El comportamiento de todos los sistemas transdérmicos depende de la capacidad del fármaco para permear la piel en cantidades suficientes para lograr un efecto terapéutico. Muchos de los fármacos bajo investigación no poseen por sí mismos esta capacidad y debe hallarse alguna forma de modificar la barrera de difusión<sup>(7)</sup>.

TABLA 1. COMPOSICIÓN (% PESO) DE LÍPIDOS DE LA PIEL <sup>(10)</sup>.

Lípidos de la piel	% (p/p)	Modelo	Autor <sup>(referencia)</sup>	Año
Fosfolípidos totales	24.1	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	37.8	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12,13)</sup>	1991, 1986
	0.0	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6,14,15)</sup>	1996, 1993, 1992
Esfingomielina	9.5	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
	0.0	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
Fosfatidilcolina	16.7	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14)</sup>	1993
	0.0	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
Fosfatidilserina	1.1	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14)</sup>	1993
	0.0	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
Fosfatidilinositol	2.1	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14)</sup>	1993
	0.0	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
Fosfatidiletanolamina	8.4	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14)</sup>	1993
	0.0	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
Colesterol	15.4	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14)</sup>	1986
	24.4	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
	28.4	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
Sulfato de colesterol	0.2	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	1.1	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12,13)</sup>	1991, 1986
	2.0	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
Esteres de colesterol	2.6	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	4.1	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12,13)</sup>	1991, 1986
	15.5	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
Acilceramidas	1.7	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	6.0	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
Acilglicosilceramidas	3.2	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	4.9	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
	0.0	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6)</sup>	1996
Glicosilceramidas	2.3	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(10)</sup>	1986
	0.0	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12,13)</sup>	1991, 1986
	0.7	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
Ceramidas totales	12.2	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	25.3	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12,13)</sup>	1991, 1986
	39.7	barrera de cerdo	Wertz <sup>(15)</sup>	1996, 1993
Ceramida 1	6.0	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14,15)</sup>	1993, 1992
Ceramida 2	13.0	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14,15)</sup>	1993, 1992
Ceramida 3	5.2	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14,15)</sup>	1993, 1992
Ceramida 4	4.1	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14,15)</sup>	1993, 1992
Ceramida 5	3.5	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14,15)</sup>	1993, 1992
Ceramida 6	7.2	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14,15)</sup>	1993, 1992
Ácidos grasos	13.6	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	21.2	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12,13)</sup>	1991, 1986
	11.2	barrera de cerdo	Wertz <sup>(6,14)</sup>	1996, 1993
Triglicéridos	24.7	epitelio de cerdo	Wertz <sup>(11)</sup>	1986
	38.7	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991
	1.3	barrera de cerdo	Wertz <sup>(14)</sup>	1993
Lípidos unidos totales	2.4	barrera de cerdo	Chang <sup>(16)</sup>	1993
Lípidos totales	122.4	epitelio de cerdo	Squier <sup>(12)</sup>	1991

Los promotores de penetración son moléculas que remueven, reversiblemente, la barrera resistente del estrato córneo, ayudando a los fármacos a penetrar más rápidamente en los tejidos, para actuar de manera local o incluso para llegar a circulación sistémica<sup>(8,27)</sup>.

Según Barry<sup>(28)</sup>, los atributos ideales para un promotor son :

- ser farmacológicamente inerte y no poseer acción sobre los sitios receptores de la piel, o el cuerpo en general
- no ser tóxico, irritante o alergénico
- después de su aplicación, el inicio de la acción debe ser inmediato y la duración debe ser predecible
- cuando el promotor es removido de la piel, el tejido debe recuperar completa e inmediatamente su propiedad normal de protección
- la función protectora de la piel debe reducirse solo en una dirección
- ser compatible física y químicamente con una gran variedad de fármacos y adyuvantes farmacéuticos
- ser un excelente solvente para fármacos
- extenderse muy bien sobre la piel y ser cosméticamente aceptable
- poder ser formulado en lociones, suspensiones, cremas, geles, aerosoles, ungüentos y sistemas adhesivos de piel
- ser una sustancia inodora, incolora, insípida y económica.

## b) PROMOTORES MÁS COMUNMENTE UTILIZADOS

### b1. CLASIFICACIÓN DE LOS PROMOTORES

De manera general, los promotores que se han utilizado pueden clasificarse de acuerdo a su naturaleza química en<sup>(29)</sup> :

#### 1. Solventes

- agua
- alcoholes : etanol, metanol
- alquilmetilsulfóxidos : dimetilsulfóxido, decilmetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida
- pirrolidonas : N-metil-2-pirrolidona, 2-pirrolidona
- Laurocapram : Azona<sup>®</sup>
- varios : propilenglicol, alcohol tetrahydrofurfurilo.

#### 2. Surfactantes

- aniónicos : alquilsulfatos (dodecilsulfato de sodio)
- catiónicos : cetiltrimetil bromuro de amonio
- no iónicos : polisorbatos (Tweens<sup>®</sup>, Brijis<sup>®</sup>, Texafors<sup>®</sup>)
- ácidos grasos : ácido oleico
- sales biliares : taurocolato de sodio, glicolato de sodio.

### 3. Otros

- urea
- tioglicolato de calcio
- N,N-dietil-m-toluanida
- agentes anticolinérgicos
- varios : eucaliptol, di-o-metil- $\beta$ -ciclodextrina.

Otra manera de clasificarlos es de acuerdo a su polaridad <sup>(8)</sup>, de la siguiente forma :

<u>Polaridad</u>	<u>Promotor</u>
alta	propilenglicol
baja	dimetilsulfóxido, dimetilformamida N-metil-2-pirrolidona, 2-pirrolidona
intermedia	decilmetsulfóxido
no polar	Azona, ácido oleico

### b2. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROMOTORES

Los promotores pueden actuar por uno o más de tres mecanismos principales<sup>(8,27)</sup> :

- alterando los lípidos del estrato córneo
- alterando las proteínas del estrato córneo
- incrementando la partición del fármaco dentro de los tejidos.

Cuando un promotor afecta la estructura lipídica, se cree que divide la estructura de la bicapa, disminuyendo la rigidez y facilitando la permeación de fármacos.

En general, la extensión de la promoción observada con algunos promotores, ha mostrado ser proporcional al incremento del desorden o fluidización del campo lipídico. Un incremento en la fluidización se ha observado cuando los ácidos grasos son usados para promover la absorción de insulina y propanol en la mucosa bucal<sup>(10)</sup>.

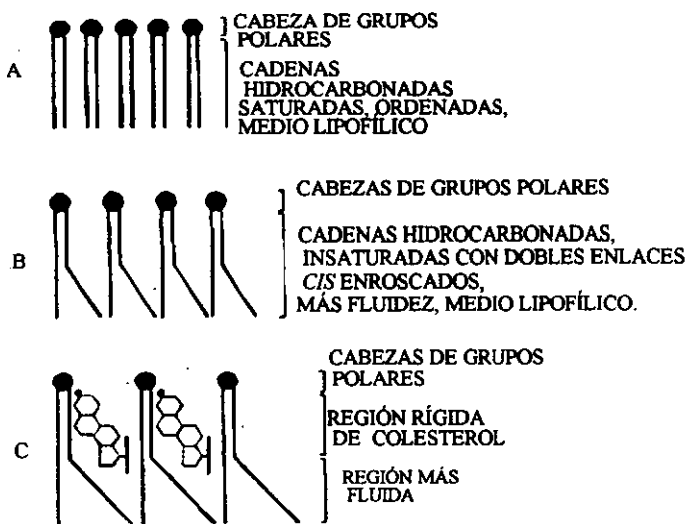
Estudios de calorimetría diferencial de barrido (DSC)<sup>(8)</sup> han demostrado un incremento en la fluidización de la bicapa reduciendo la fuerza intermolecular y en consecuencia facilitando la migración de un fármaco; tal efecto podría permitir al fármaco permear más fácilmente a través de un medio menos rígido. Esto podría explicar porqué para algunas moléculas la hidratación incrementa el flujo polar y no polar.

Diferentes estudios con DSC y espectroscopia de infrarojo (IR) han mostrado incrementos significativos en la fluidización lipídica cuando se utilizan ácidos grasos *cis*-insaturados. El análisis muestra una reducción de la temperatura de transición vítrea ( $T_M$ ) asociado con los lípidos intercelulares así como un cambio a una frecuencia más alta y un ensanchamiento de las señales asociadas a los lípidos, en los espectros infrarojos. Se ha propuesto que la presencia de dobles enlaces con configuración *cis* previenen la formación de cristales bien ordenados. La inclusión de ácidos grasos en membranas fosfolipídicas puede afectar la estructura de la fase lamelar al formar puentes de hidrógeno entre el grupo carboxilo de los ácidos grasos y el grupo fosfato de los fosfolípidos y por favorecimiento directo de la transición gel→hexagonal ( $H_{II}$ )<sup>(10)</sup>.

El efecto de la composición sobre la fluidización de la bicapa lipídica se observa en la figura 4.



En un estudio<sup>(30)</sup> se evaluó el papel de los lípidos dentro del estrato córneo por medio de la medición de los cambios de temperatura, evaluando la permeabilidad del vapor de agua y la frecuencia de estrechamiento C-H (con IR), observándose que ambos aumentaron entre 50-80°C. El cambio en la frecuencia de estrechamiento C-H es característico de una transición de fase y está relacionado a la formación de conformeros izquierdos en la cadena alquílica, los cuales crean espacios de volumen libre dentro del campo de lípidos hidrocarbonados y favorecen así el paso de los fármacos.



A - cadenas de ácidos grasos saturados empacadas de manera compacta.  
 B - enroscaduras debidas a los dobles enlaces *cis*, dilatando la estructura.  
 C - moléculas esteroideas de colesterol en forma de platos, interactuando con una región de cadenas hidrocarbonadas en parte immobilizadas, muy cerrada en la región de grupos de cabezas polares.

FIGURA 4. EFECTO DE LA COMPOSICIÓN SOBRE LA FLUIDIZACIÓN DE LA BICAPA LIPIDICA<sup>(31)</sup>.

Otro posible mecanismo de penetración es la extracción de lípidos intercelulares. Sales biliares han mostrado ser capaces de solubilizar los lípidos bucales<sup>(10)</sup>; diferentes estudios con liposomas muestran que los surfactantes disminuyen la  $T_M$  e incrementan el intervalo sobre el cual la transición se lleva a cabo, como una consecuencia de la perturbación del empaquetamiento de la bicapa. La extracción lipídica es el modo de acción más aceptado para el etanol<sup>(10)</sup>. Algunos ejemplos de promotores que actúan sobre los lípidos son la Azona y el ácido oleico.

Cuando el promotor actúa a nivel protéico, lo hace interactuando con la queratina, cambiando la configuración protéica y abriendo canales de agua dentro del corneocito<sup>(8)</sup>. Muchos promotores interactúan con proteínas intracelulares y pueden solvatar el contenido celular, desplazar la unión de agua, expandir la estructura y competir con fármacos por sitios de unión con hidrógeno. Ejemplos de promotores que actúan así son el decilmetilsulfóxido (DCMS), dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO) y dodecilsulfato de sodio (DSS).

En la figura 5 se presenta un modelo de la estructura intercelular, considerando la localización de las proteínas y en la figura 6 se muestra un ejemplo del mecanismo de acción de un promotor que actúa a nivel protéico (DCMS).

Algunos otros promotores se acumulan en las regiones intercelulares y proteicas del tejido y su presencia puede incrementar la partición del fármaco en la piel, incrementando el flujo<sup>(6)</sup>. Algunos promotores que actúan de esta forma son el DMSO, pirrolidonas, propilenglicol y etanol<sup>(8,27)</sup>.

Si el propilenglicol es usado en combinación con un promotor que actúa sobre la barrera lipídica, entonces el glicol entra al tejido y promueve la difusión intracelular del fármaco,

mejor de lo que lo hace el agua. Además el propilenglicol puede solvatar el tejido, formar puentes de hidrógeno con los grupos polares de las queratinas y desplazar la unión proteína-agua aumentando la penetración de los fármacos<sup>(31)</sup>.

Combinaciones de promotores que actúan tanto a nivel protéico intracelular como a nivel lipídico, son efectivos ayudando también la presencia de solventes que sinergicen la acción del promotor.

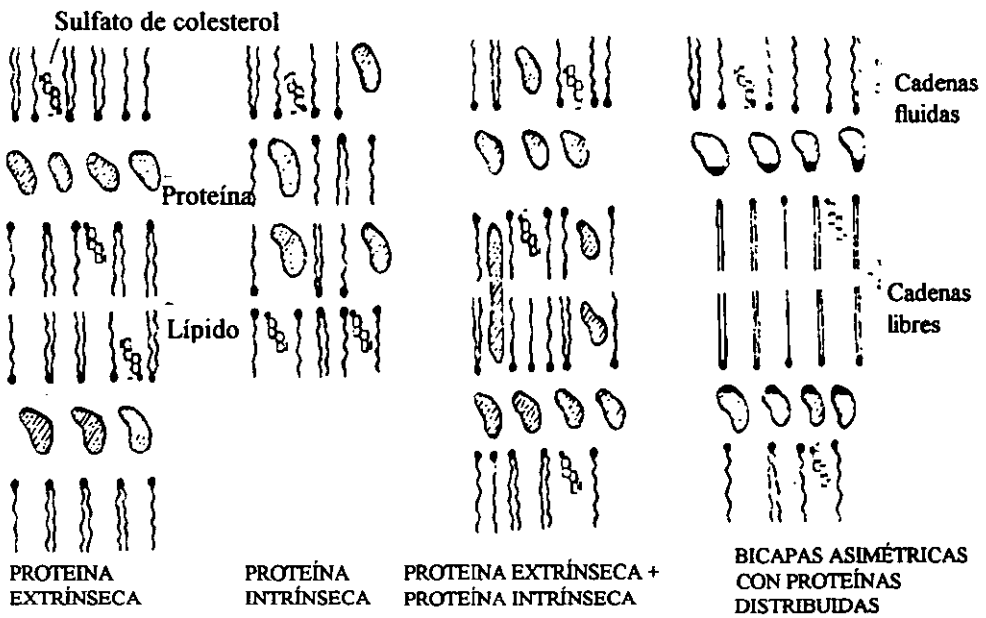


FIGURA 5. MODELOS DE LA ESTRUCTURA INTERCELULAR, INCLUYENDO PROTEÍNAS<sup>(27)</sup>

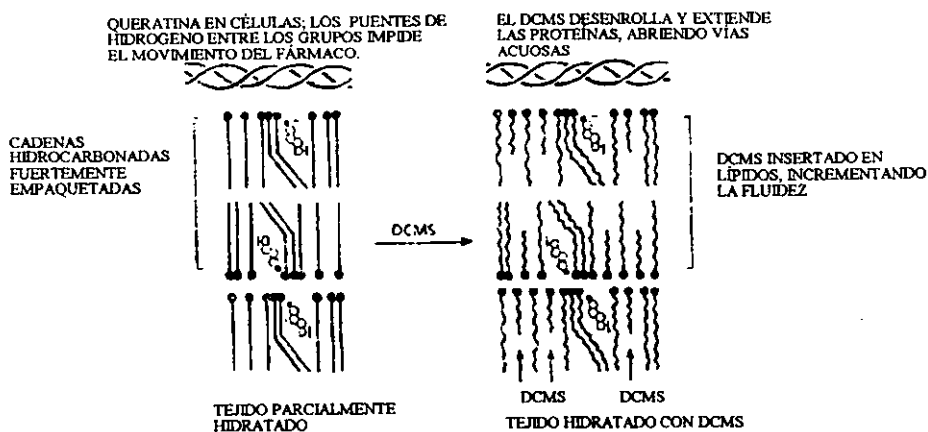


FIGURA 6. MECANISMO DE ACCIÓN DEL DCMS <sup>(27)</sup>

En tejidos secos, el contenido intracelular y los puentes de hidrogeno entre los grupos le dan solidez e impiden el transporte de fármacos. En condiciones hidratadas, la región intracelular es más fluida y el agua compite por los sitios de unión con hidrogeno, disminuyendo la barrera de difusión (Fig 7); es por ello que materiales como el propilenglicol ejercen acción sobre las proteínas, siendo más efectivo en condiciones parcialmente hidratadas <sup>(8)</sup>.

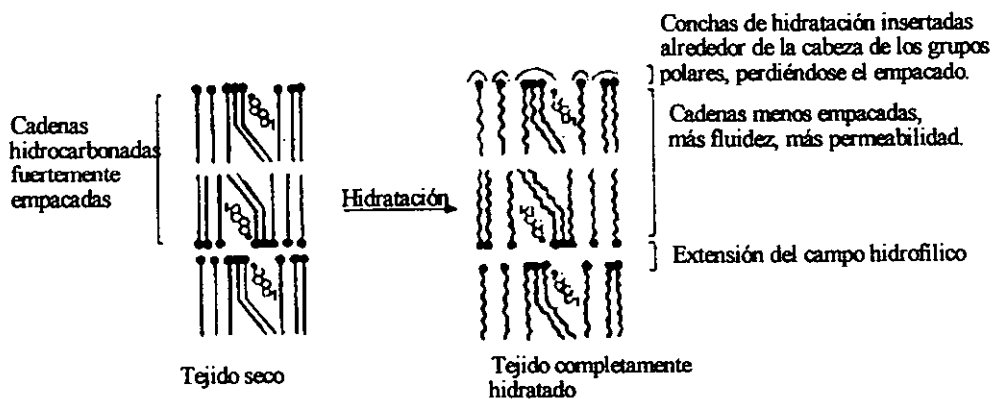


FIGURA 7. EFECTO DEL AGUA SOBRE EL ESTRATO CÓRNEO <sup>(8)</sup>

Además, existen dos microrutas de acceso ( Fig 8) <sup>(8,27)</sup>:

1. intercelular (entre las células): se cree que los promotores podrían interactuar con la cabeza polar de los grupos lipídicos dentro de la región acuosa, entre las cabezas lipídicas y los tallos hidrofílicos de la bicapa. Tal es el caso de los promotores no polares como la Azona y el ácido oleico.

2. transcelular (a través de células proteicas y cruzando regiones lipídicas): aquí participan promotores que son solventes apróticos, como dimetilsulfóxido, dimetilformamida, pirrolidonas y surfactantes, los cuales pueden interactuar con grupos polares, tener relación con la relajación de fuerzas de unión y alterar la conformación de las hélices de la queratina.

Cada tipo de penetración depende de la solubilidad, coeficiente de partición y difusividad del fármaco, es decir, depende de sus características fisicoquímicas.

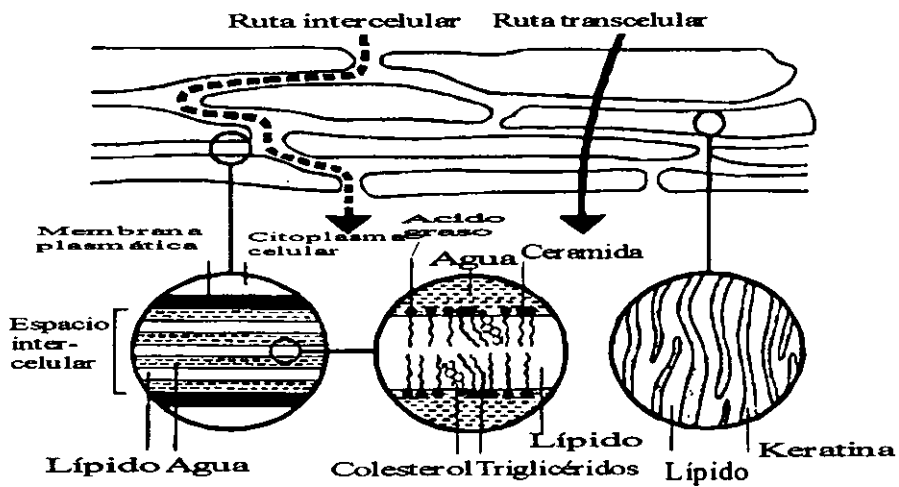


FIGURA 8. MICRORUTAS DE PENETRACIÓN DE FÁRMACOS AL ESTRATO CÓRNEO <sup>(8)</sup>

El transporte intracelular (transcelular) puede ser incrementado por la acción solvatante de los promotores sobre las hélices proteicas; este mecanismo se conjuga con el desplazamiento de puentes de agua-proteína, la expansión de estructura proteica y la competencia de los promotores por sitios de unión con hidrógeno <sup>(8,32)</sup>.

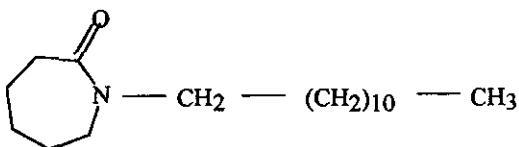
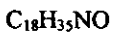
Otro punto importante de la acción de ciertos promotores es la selección del co-solvente. Es posible que la función de éste sea disminuir la polaridad de la región acuosa y así incrementar su capacidad de solubilidad para materiales lipídicos como la Azona y derivados; el co-solvente también puede alterar el empaquetamiento de los grupos de la cabeza lipídica <sup>(27)</sup>.

Pueden añadirse excipientes que mejoren la solubilidad del penetrante en la piel, incrementen el gradiente de concentración en el estrato córneo y por lo tanto incrementen el flujo; tal es el caso del propilenglicol y el transcitol <sup>(32)</sup>.

Lo anterior muestra evidencias de que existe un sinergismo entre los promotores y los solventes.

### c) AZONA

#### c1. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS <sup>(33)</sup>



- Otros nombres : 1-dodecilhexahidro-2-H-azepin-2-ona, Laurocapram, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona, N-docecil-ε-caprolactam y N-0252.
- Composición : C= 76.81%, H= 12.53 %, N=4.98% y O=5.68%.
- peso molecular 281.48 g/mol
- punto de fusión = -7 °C
- coeficiente de partición Log P (octanol/agua)= 6.6
- Características : Líquido claro, incoloro, no polar. Derivado de Caprolactam. Su estructura consiste en un anillo de siete miembros y una larga cadena hidrocarbonada, la cual le imparte tanto características lipofílicas como hidrofílicas, ayudándole a su partición entre las sustancias lipofílicas y las proteínas hidrofílicas, fluidizando, probablemente, los lípidos de la piel y ayudando al fármaco a atravesarla<sup>(34)</sup>.
- Solubilidad : Insoluble en agua. Libremente soluble en muchos solventes orgánicos.
- Usos : usado como excipiente farmacéutico para promover la absorción percutánea de agentes activos. También exhibe actividad intrínseca antiinflamatoria.

## c2. MECANISMO DE ACCIÓN

La Azona afecta dramáticamente la estructura lipídica. De acuerdo con estudios de DSC<sup>(8,34,35)</sup> se piensa que participa directamente en la región intercelular de la capa córnea, insertándose entre los lípidos y previniendo la cristalización de las cadenas, trayendo como consecuencia la facilitación del transporte de fármacos<sup>(18)</sup>.

Estudios de fluorescencia han demostrado que la Azona incrementa la fluidez lipídica y altera la estructura de la queratina, provocando quizá una reorganización en el campo lipídico<sup>(36)</sup>.

La Azona es capaz de acelerar la penetración de fármacos tanto por mecanismos moleculares vía lipofílica como hidrofílica. La Azona no parece interactuar con proteínas, no entra a las células en cantidades significativas<sup>(34)</sup>. En la figura 9 se ilustra el posible mecanismo de acción de la Azona.

La combinación de propilenglicol con Azona es más efectiva que la Azona sola. El propilenglicol ayuda a que la Azona penetre, ya que sus moléculas ocupan algunas regiones hidrofílicas entre las cabezas polares de los grupos lipídicos. La Azona es más soluble en propilenglicol que en agua, por lo que es capaz de participar más fácilmente en el campo intercelular cuando se utiliza con este co-solvente. La Azona promueve solo la difusión intercelular, mientras el propilenglicol promueve el transporte intracelular; las moléculas de propilenglicol se insertan en la región hidrofílica, entre las cabezas polares de los grupos lipídicos, permitiendo la partición de la Azona dentro del campo intercelular.

De esta forma, la mezcla incrementa la penetración a través del estrato córneo al afectar tanto la ruta de penetración hidrofílica como la lipofílica. La Azona altera el empaquetamiento lipídico haciendo que los lípidos sean más fluidos y flexibles, mientras el propilenglicol aumenta el contenido de agua de las regiones proteináceas, ayudando a la Azona a interactuar con las regiones acuosas<sup>(34)</sup>.



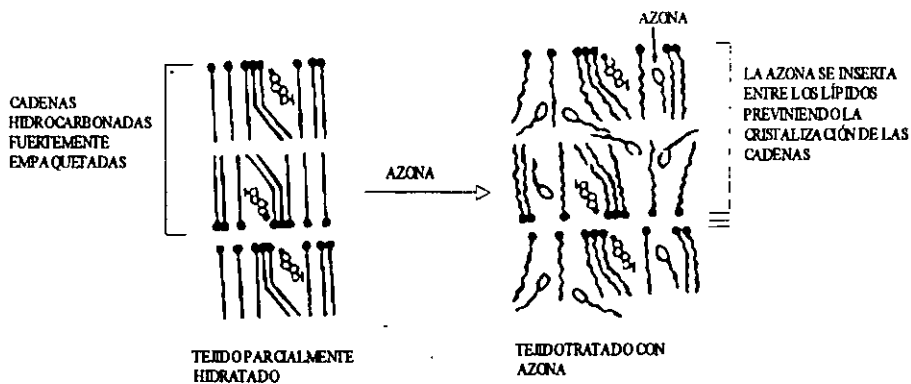
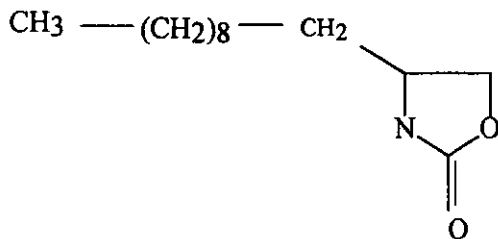


FIGURA 9. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA AZONA <sup>(8)</sup>

d) 4-DECILOXAZOLIDIN-2-ONA (DERMAC SR-38<sup>®</sup>): UN NUEVO PROMOTOR DE ABSORCIÓN

d1. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS <sup>(37)</sup>

$C_{13}H_{25}NO_2$



- peso molecular : 227.34 g/mol
- punto de fusión = 32-33°C
- punto de ebullición = 170°C
- HLB = 10

- Solubilidad : Soluble en varios vehiculos lipofilicos e hidrofílicos y alcoholes.
  - Características : Cristales sólidos, blancos, pertenecientes a las oxazolidinas alifáticas.
  - Usos : En cremas, ungüentos, soluciones y geles.
  - Aplicaciones :
    - Excipiente para productos del cuidado de la piel y belleza. Para productos farmacéuticos tópicos y transdérmicos.
    - Optimiza la estabilidad física y mejora propiedades de formulaciones de productos tópicos.
- El Dermac SR-38<sup>®</sup> maximiza la absorción de ingredientes activos en el estrato córneo, resultando en el mejoramiento de la retención o permeación.

#### d2. ESTUDIOS DE PERMEACIÓN

Se han probado diversas oxazolidinas, incluyendo el Dermac-SR-38<sup>®</sup>, haciendo estudios de permeación *in vitro* de fármacos, a través de mucosa oral o intestinal y tejido epitelial. El promotor SR-38<sup>®</sup> promueve la permeación de fármacos para efecto local y sistémico por incremento temporal de la permeabilidad de la piel o membrana epitelial <sup>37)</sup>.

El SR-38<sup>®</sup> se distingue porque posee ciertas características de un promotor ideal :

- no irrita
- es efectivo a bajas concentraciones
- es estructuralmente compatible con los componentes lipídicos de la piel
- demostró ser no tóxico en estudios preclínicos toxicológicos.

Prototipos de sistemas transdérmicos han demostrado incrementos sustanciales en la penetración de fármacos a través de la piel humana, incluyendo morfina, nicotina,

progesterona, estradiol, alprazolam, sulfato de morfina, minoxidil, diclofenaco sódico y dinitrato de isosorbide<sup>(37)</sup>.

### III . PRINCIPIOS DE LA PERMEACIÓN

#### a) LEY DE FICK

La difusión libre o transporte pasivo a través de líquidos, sólidos y membranas es un proceso de considerable importancia para la ciencia farmacéutica. La difusión es definida como un proceso de transferencia de masa de moléculas individuales de una sustancia conducida por movimiento molecular aleatorio y asociado a un gradiente de concentración<sup>(38)</sup>.

El pasaje de materia a través de una barrera puede ocurrir por simple permeación molecular o por movimiento a través de poros y canales. La permeación o difusión molecular depende de la disolución de la molécula permeante en la membrana.

Según la primera ley de Fick<sup>(39)</sup>, la velocidad de difusión o flujo puede determinarse con la ecuación :

$$J = dM / S \cdot dt \quad \dots \quad (1)$$

donde :

dM : cantidad de material (g)

S : superficie de la barrera (cm<sup>2</sup>)

t : tiempo (seg)

J : flujo

El flujo en turno es proporcional al gradiente de concentración  $dC/dx$ , de modo que para un modelo monodimensional:

$$J = - D * dC/dx \quad \dots \quad (2)$$

donde :

D : coeficiente de difusión ( $\text{cm}^2/\text{seg}$ )

C : concentración ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

x : distancia del movimiento perpendicular a la superficie de la barrera (cm)

el signo negativo significa que la difusión ocurre en una dirección opuesta al incremento de la concentración, es decir que el flujo va de la solución concentrada a la diluida.

Una ecuación para el transporte de masa que enfatiza el cambio en concentración con respecto al tiempo para una determinada situación, en lugar de la masa difundida a través de unidad de área de barrera en unidad de tiempo, es conocida como la segunda ley de Fick. La primera ley de Fick indica el flujo o tasa de difusión por unidad de área es proporcional al gradiente de concentración, mientras que la segunda ley se refiere en general al cambio en concentración del soluto con respecto al tiempo, a una distancia x, en un estado de flujo no estacionario<sup>(38)</sup>.

Para hacer un estudio de difusión puede considerarse un sistema como el de la figura 10 donde se muestra una celda de difusión en donde del lado izquierdo se coloca el difusante en solución y del derecho el solvente solo ; ambos son separados por una barrera central a través de la cual el penetrante o soluto difundirá al solvente del compartimento receptor. Generalmente el compartimento receptor es constantemente reemplazado con solvente fresco para mantener la concentración a niveles bajos y referirse a condiciones sink.

Si los dos compartimentos de la celda de difusión se encuentran separados por una membrana con área de sección transversal  $S$  y espesor  $h$ , y si la concentración en la membrana sobre el lado donador y el lado receptor son  $C_1$  y  $C_2$ , respectivamente, la ecuación 1 de la primera ley de Fick puede ser escrita <sup>(28)</sup>:

$$J = dM/S \cdot dt = D [(C_1 - C_2) / h] \quad \dots (3)$$

Las concentraciones  $C_1 - C_2$  dentro de la membrana ordinariamente no se conoce, pero pueden ser reemplazadas por el coeficiente de partición multiplicado por la concentración del donador  $C_d$  sobre el lado donador, o sobre el lado receptor  $C_r$  como sigue :

$$K = C_1/C_d = C_2/C_r \quad \dots (4)$$

donde  $K$  : coeficiente de partición.

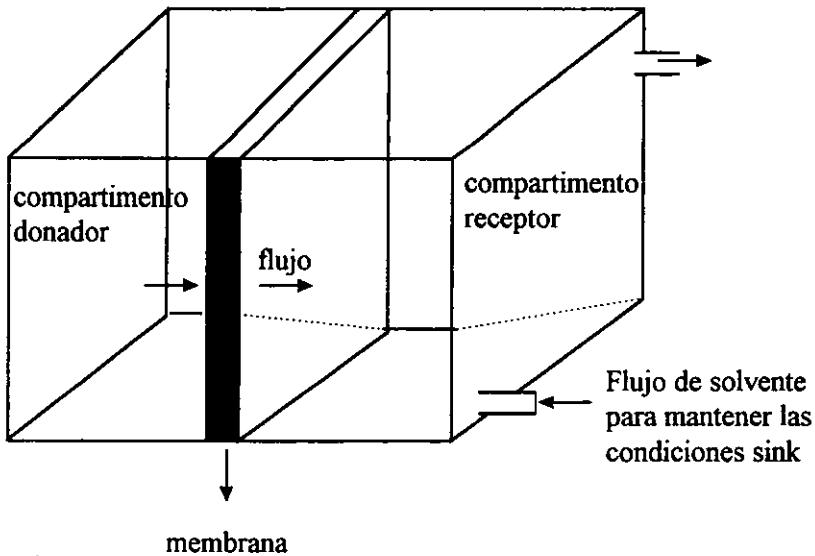


FIGURA 10. CELDA DE DIFUSIÓN<sup>(38)</sup>

Entonces  $dM/dt = DSK(C_d - C_r) / h$  ... ( 5 )

y si las condiciones sink se mantienen en el compartimento receptor,  $C_r \approx 0$ ,

entonces  $dM/dt = DSKC_d/h = PSC_d$  ... ( 6 )

de donde

$$P = DK/h \quad \dots ( 7 )$$

siendo P : coeficiente de permeabilidad y dándose en cm/seg.

Esta última ecuación es útil cuando no es posible determinar independientemente D, K o h.

El flujo J es actualmente proporcional al gradiente de actividad termodinámico en lugar de la concentración. La actividad puede cambiar en diferentes solventes y la tasa de difusión de un soluto a determinada concentración puede variar mucho dependiendo del solvente empleado.

Una constante de actividad de alguna forma de dosis puede no exhibir un proceso de estado constante en un tiempo inicial de liberación. Puede ocurrir que la curva sea convexa al inicio y después se vuelva lineal ; cuando la porción de estado constante de la línea es extrapolada al eje del tiempo, el punto de intersección es conocido como tiempo de latencia ( $t_L$ ).

El  $t_L$  es el tiempo requerido para que el penetrante establezca un gradiente de concentración uniforme dentro de la membrana que separa el compartimento donador del receptor<sup>(39)</sup>.

Matemáticamente,  $t_L$  está dado por :

$$t_L = h^2/6D = hK/6P \quad \dots ( 8 )$$

## b) TIPOS DE DISPOSITIVOS

Se han reportado varias celdas de difusión para experimentación, pero la de construcción más simple sean quizá las reportadas por Aguiar y Weiner<sup>(40)</sup>, quienes hicieron una celda de vidrio o plástico transparente, como las mostradas en la figura 11 ; son fáciles de ensamblar

y limpiar y mejoran la visibilidad de los líquidos y la rotación del agitador. Esta celda está adecuadamente acondicionada para controlar la temperatura y coleccionar muestras automáticamente, que son ensayadas espectrofotométricamente, de manera subsecuente.

Biber y Rhodes <sup>(41)</sup> construyeron una celda de difusión en plexiglas con tres compartimentos para usarse con membranas biológicas o sintéticas. El fármaco era ayudado a difundir de los dos compartimentos al interior del receptor central ; los resultados fueron reproducidos y comparados favorablemente con los de otros investigadores.

Scheuplein <sup>(42)</sup> empleó piel humana y animal obtenida de autopsias para estudios de absorción percutánea ; describió una celda hecha de Pyrex y consistente de dos mitades, una cámara donadora y una receptora, separadas por una muestra de piel soportada sobre un plato perforado al que se encontraba bien fijada. El líquido en el receptor se agitaba por una barra magnética cubierta de teflón. El aparato era sumergido en un baño de temperatura constante y las muestras eran removidas periódicamente y ensayadas por métodos apropiados.

Wurster y cols <sup>(43)</sup> desarrollaron una celda de permeabilidad para estudiar la difusión a través del estrato córneo de varios permeantes, incluyendo gases, líquidos y geles. El modelo se muestra en la figura 12. Durante los experimentos de difusión se mantenía constante la temperatura y las muestras eran tomadas del receptor a tiempos definidos, para ser analizadas posteriormente.

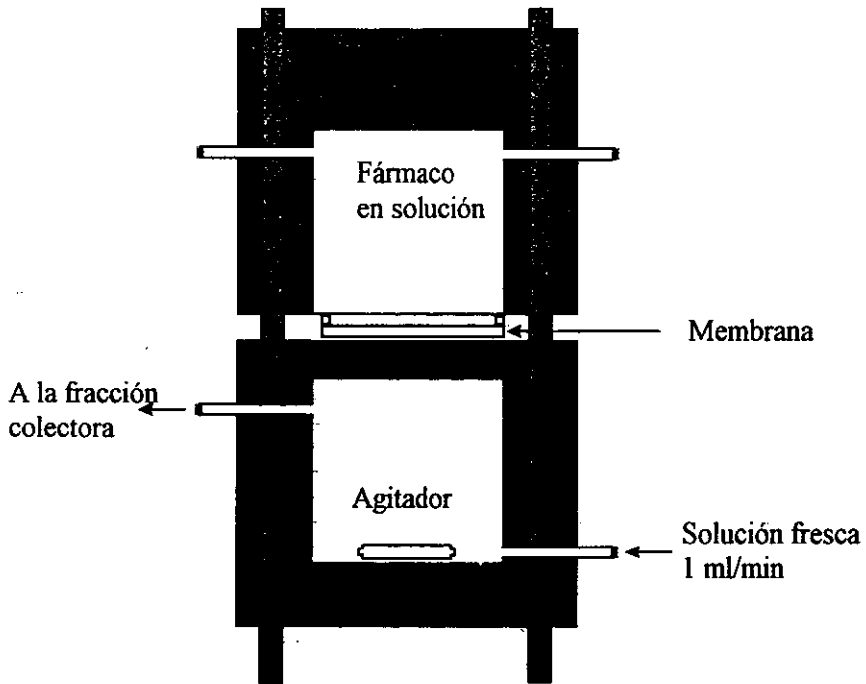


FIGURA 11. CELDA SIMPLE DE DIFUSIÓN DE AGUIAR Y WEINER <sup>(40)</sup>

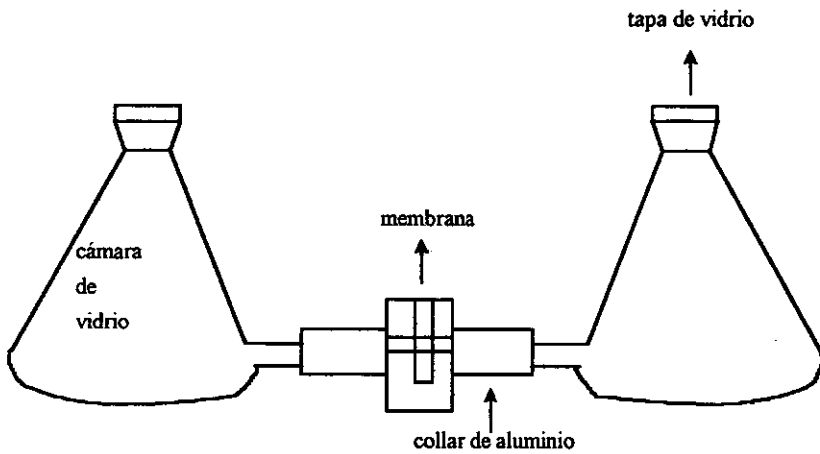


FIGURA 12. CELDA DE WURSTER <sup>(43)</sup>



Actualmente, los estudios de liberación transdérmica *in vitro* son conducidos en celdas de difusión horizontales o verticales, como los que se muestran en las figuras 13 y 14:

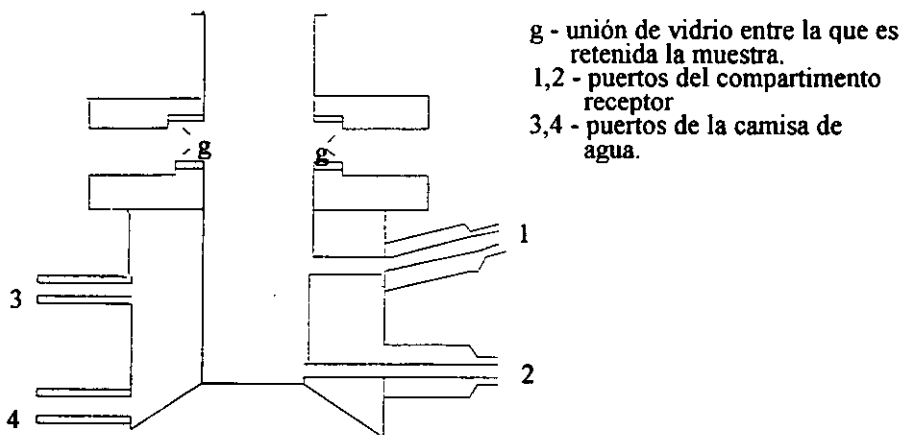
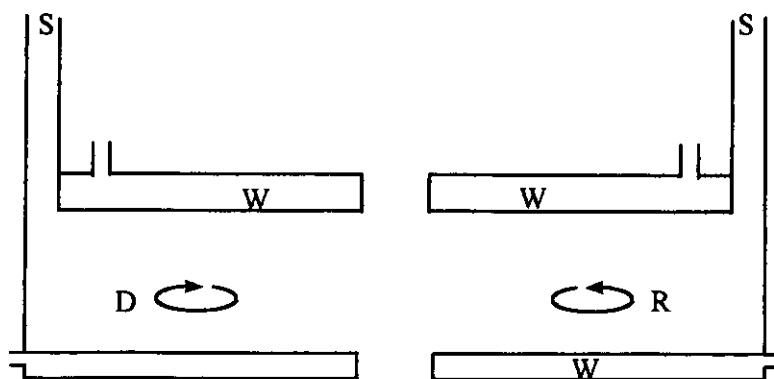


FIGURA 13. CELDA DE DIFUSIÓN VERTICAL <sup>(39)</sup>



- S - puertos de la muestra
- D - compartimento donador
- R - compartimento receptor
- W - bolsa de agua

La muestra de piel está puesta en un plano vertical relativo al cuerpo celular.

FIGURA 14. CELDA DE DIFUSIÓN HORIZONTAL <sup>(39)</sup>

Tanto en celdas verticales como horizontales es fácil agitar y controlar la temperatura. Típicamente, el compartimento receptor es hecho lo más pequeño posible siempre y cuando se mantengan las condiciones sink<sup>(39)</sup>.

Una vez que se han tomado las muestras del compartimento receptor, se procede a determinar la concentración del penetrante que ha difundido. El procedimiento más empleado es el de marcado radiactivo, que presenta dos ventajas :

- \* es muy simple para estudiar la cinética de penetración, asumiendo que la ruta metabólica es conocida, y

- \* provee, por simple balance de masa, cálculo de una parte esencial de los experimentos *in vitro*, de penetración en piel <sup>(39)</sup>.

También pueden emplearse técnicas analíticas como Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), Cromatografía líquido-gas (GLC) y absorción atómica, pero requieren del desarrollo analítico individual para cada molécula bajo estudio.

### c) MODELOS ANIMALES

Cuando se realizan estudios de permeación, lo ideal sería trabajar con sujetos humanos, sin embargo resulta problemática la obtención, transporte y almacenamiento de biopsias de piel , siendo una limitante para este tipo de estudios<sup>(44)</sup>. Cuando no es posible utilizar piel humana para estudios *in vitro* <sup>(45)</sup>, se emplea piel de cerdo o ratón, el uso de piel de ratón es desalentador porque exhibe tazas de absorción percutánea considerablemente elevadas. En general existe un grado de concordancia muy bueno entre la piel humana y la del cerdo, dando ordenes de absorción percutánea mantenida para ambas especies, mostrándose sutiles diferencias en la distribución de componentes en la epidermis y dermis. Métodos *in vitro* para medir la permeabilidad requieren de muchas variables a controlar para correlacionarse

*in vivo* pero permiten la derivación de parámetros objetivos tales como el coeficiente de permeabilidad que puede compararse con datos ya publicados.

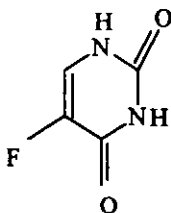
Se han hecho varios estudios que comparan las características de la piel humana con la del cerdo en cuanto a su permeabilidad. En un estudio <sup>(46)</sup> se examinó la permeabilidad del agua y el contenido lipídico de la epidermis porcina para determinar si la relación hecha por Elias y cols (que dice que para la piel la mayor determinante de la función protectora es el contenido lipídico del estrato córneo), podía extenderse a otros tejidos. En otro estudio se determinó, utilizando tejido porcino<sup>(47)</sup>, que la barrera de permeabilidad es mediada por lípidos organizados en una forma precisa en el espacio intercelular del estrato córneo, diferenciándose por su tipo y distribución, siendo la impermeabilidad de la epidermis mucho mayor a la de otras membranas como la bucal y gingival.

Se realizó una comparación entre los valores de la permeabilidad humana y porcina <sup>(44)</sup> por medio de la comparación del efecto de congelamiento producido sobre dichos valores, no encontrándose diferencias significativas para la piel ; tampoco se encontró diferencia entre la piel fresca y la congelada.

Todo lo anterior constituye la base para proponer que el cerdo es un modelo válido para humanos y que existe una concordancia entre la permeabilidad de la piel de ambas especies.

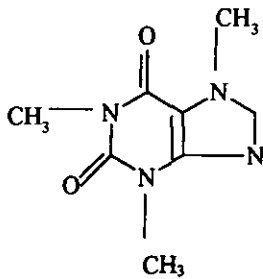
#### IV. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS FÁRMACOS UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO.

##### a) 5-FLUOROURACILO <sup>(48)</sup>



- Nombre químico : 5-fluoropirimidina-2,4(1 H, 3H) - diona.
- peso molecular = 130.1 g/mol
- pKa = 8, 13.
- Características : polvo blanco cristalino que descompone a 282°C. Es irritante, evite el contacto con piel y mucosas.
- Uso : antineoplásico.
- Solubilidad : escasamente soluble en agua, ligeramente soluble en etanol y prácticamente insoluble en cloroformo y éter. En propilenglicol de 0.039 M.
- Coeficiente de partición : Log P (octanol/pH 7.4)= - 1.0, Log P(octanol/agua) = -0.95
- Identificación : con espectroscopia ultravioleta (UV) en ácido acuoso a 266 nm y con espectroscopia en infrarojo ( IR).

b) CAFEINA<sup>(49,50)</sup>



- Nombre químico : 7-metilteofilina, 1,3,7-trimetilxantina, metilteobromina, 1,3,7-trimetil-4,6-dioxopurina.
- Sinónimos : cafeína anhidra, guaranina, metilteobromina, teina y cofeinum.
- peso molecular = 194.2 g/ml
- pKa = 14
- Características : cristales blancos, no necesariamente brillosos o polvo blanco cristalino. Incoloro y de sabor amargo. Es un alcaloide obtenido de té o café ; puede obtenerse también por secamiento de *Camelia sinensis* o preparado sintéticamente. Está presente en guarana, maté y cola.
- Usos : estimulante del sistema nervioso central.
- Solubilidad : ligeramente soluble en pirroles y en ácidos diluidos. 1 g disuelve en : 6 ml de cloroformo, 600 ml de éter, 50 ml de acetona, 50 ml de agua, 6ml de agua a 80°C,

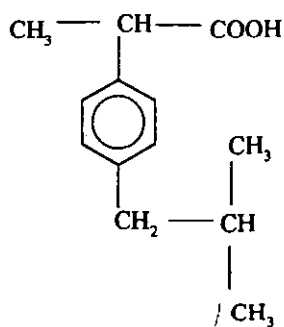
100 ml de benceno, 22 ml de benceno hirviendo, 75 ml de alcohol y 25 ml de alcohol a 60°C. En propilenglicol de 0.0043 M.

Como la cafeína tiene carácter básico, no forma sales estables y frecuentemente sus sales de ácidos fuertes, tales como hidroclouros o hidrobromuros, son fácilmente hidrolizables en agua. La solubilidad de la cafeína en agua es incrementada por la presencia de ácidos orgánicos o sus sales alcalinas como los benzoatos, salicilatos, cinamatos o citratos.

- Coeficiente de partición :  $\text{Log P}(\text{octanol/pH } 7.4) = 0.0$ ,  $\text{Log P}(\text{octanol/agua}) = -0.07$
- Identificación por : UV, IR, HPLC, Espectroscopia de masas, cromatografía de gases y de capa fina y reacciones coloridas. Da respuesta en UV de acuerdo al solvente :

SOLVENTE	$\lambda$ max (nm)
metanol	272
tricloroetileno	278
etanol	273
0.1 N HCl	272,275
0.1 N NaOH	275

c) IBUPROFENO<sup>(51)</sup>



- Nombre químico : ácido 2-(4-isobutilfenil) propiónico
- peso molecular = 206.3 g/mol
- Características : polvo blanco o cristales
- punto de fusión = 75 - 78°C
- pKa = 4.4 , 5.2
- Solubilidad : insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos y 1 en : 1.5 de etanol, 1 de cloroformo y 2 de éter. En propilenglicol de 1.528 M.
- Identificación : por IR, UV (en álcali acuoso a 265 nm y 221 nm), Espectroscopia de masas, HPLC, cromatografía de capa fina y de gases y por reacciones coloridas.
- Coeficiente de partición Log P (octanol/agua) = 3.51

## 2. OBJETIVOS

### OBJETIVOS GENERALES DEL PROGRAMA:

- Estudiar el pasaje de diversas sustancias (principios activos, excipientes y sustancias de uso cosmético), a través de diferentes membranas biológicas ex vivo.
  
- Determinar y comparar el efecto de diversos promotores de absorción :
  - a ) sobre el flujo de los principios activos, y
  - b) sobre los componentes de la membrana.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS :

- Determinar el efecto de dos promotores de absorción : Azona<sup>®</sup> y 4-deciloazolidin-2-ona sobre el flujo de tres fármacos con diferentes características de lipofilidad, utilizando piel de oreja de cerdo como modelo animal.
  
- Comparar el efecto de los dos promotres anteriores sobre el flujo de los principios activos.



#### OBJETIVO ACADÉMICO :

Aplicar los conocimientos adquiridos en las asignaturas de Farmacología, Biofarmacia y Tecnología Farmacéutica para poder realizar estudios de permeación, transporte a través de membranas biológicas y efecto de promotores, vehículos y fármacos sobre los componentes de la membrana (lípidos y proteínas).

#### OBJETIVOS SOCIALES :

- Esclarecer el mecanismo de acción de sustancias utilizadas como promotores de absorción en piel, con el objeto de desarrollar nuevos promotores más eficientes y más seguros que los ya existentes.
- Desarrollar nuevos sistemas de liberación para la administración de fármacos por vía tópica que respondan al gran interés que han mostrado los laboratorios farmacéuticos por desarrollar sistemas de este tipo.

### **3. CUADRO METODOLÓGICO**

- Revisión bibliográfica del desarrollo actual de promotores de absorción en piel.
- Selección de fármacos, vehículos y promotores utilizados en el estudio.
- Determinación de la metodología, condiciones experimentales y métodos de cuantificación de los principios activos.
- Realización de las permeaciones de los tres principios activos sin promotor, tomando muestras del compartimento receptor a las 0.5, 1, 2, 3, 4, 5,, 6, 7, 8 y 24 horas para la realización de las cinéticas de permeación.
- Realización de las permeaciones de los tres principios activos con los dos promotores, pretratando la piel con el promotor por una hora antes de la permeación y muestreando a las 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 24 horas para obtener la cinética de permeación correspondiente.
- Cuantificación del principio activo residual en el compartimento donador y en la membrana, al final de la permeación.
- Evaluación y comparación del efecto de los promotores sobre el flujo de los fármacos utilizados.

## 4. DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES

### 4.1 ACTIVIDADES

- Revisión bibliográfica del desarrollo actual de promotores de absorción en piel.
- Selección de fármacos, vehículos y promotores utilizados en este estudio, eligiendo tres fármacos : 5-Fluorouracilo, Cafeína e Ibuprofeno, el propilenglicol como vehiculo y dos promotores : Azona® y 4-deciloxazolidin-2-ona.
- Aislamiento del tejido animal.
- Determinación de la metodología, condiciones experimentales y métodos de cuantificación de los principios activos, basándome en la realización de :
  - a) curvas de calibración de los tres principios activos en solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4 (SBIF) utilizando concentraciones del estándar de 6, 10, 20 y 50 µg/ml
  - b) curvas de calibración de los tres principios activos en solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4 (SBIF) habiendo estado ésta en contacto con piel de oreja de cerdo por 24 horas, utilizando concentraciones del estándar de 6, 10, 20 y 50 µg/ml.

Las curvas de calibración se realizaron cada una por triplicado

- c) comparación estadística de las dos curvas anteriores para determinar una posible interferencia de los componentes de la membrana (piel de oreja de cerdo) en la cuantificación de los principios activos
- d) prueba de solubilidad de los principios activos en solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4, en propilenglicol y en solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4 con Brij al 0.5 y 1%

- Realización de las permeaciones de los tres principios activos sin promotor y obtención de las cinéticas correspondientes.
- Realización de las permeaciones de los tres principios activos con Azona<sup>s</sup> y 4-deciloxazolidin-2-ona y obtención de las cinéticas correspondientes.  
Todas las permeaciones se realizaron por quintuplicado más el blanco. Cada permeación requiere de 2 días de trabajo.
- Cuantificación del principio activo residual en el compartimento donador y en la membrana.
- Evaluación y comparación del efecto de los promotores sobre el flujo de los fármacos empleados en este estudio.

#### 4.2 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

El tiempo estimado para la realización del estudio fue inicialmente de 6 meses, el tiempo real fue de 7 meses, dándose un retraso de un mes en las permeaciones sin promotor, donde se tuvo que hacer varias pruebas con pieles de cerdo traídas de diferentes rastros para poder elegir las más adecuadas para el estudio.

A continuación se presenta una tabla con las actividades realizadas y el tiempo requerido para cada una de ellas.

Actividad	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Sept
Revisión bibliográfica	*	*						
Selección de fármacos, promotores y vehículos a utilizar. Determinación de metodología		*						
Aislamiento de tejido y membranas			*		*	*	*	
Curvas de calibración de estándares sin membrana			*					
Curvas de calibración de estándares con membrana			*					
Prueba de solubilidad				*				
Permeaciones de los tres fármacos sin promotor y obtención de las cinéticas correspondientes					*	*		
Permeaciones de los tres fármacos con Azona® y obtención de las cinéticas correspondientes						*	*	
Permeaciones de los tres fármacos con 4-deciloxazolidin-2-ona y obtención de las cinéticas correspondientes							*	*
Evaluación y comparación del efecto de los promotores								*

### 4.3 METODOLOGÍA

#### 4.3.1 MATERIALES Y REACTIVOS

##### a) REACTIVOS

- Cafeína Anhidra (Sigma Chemical Co., St. Louis Mo, USA)
- Ibuprofeno BP (Helm de México, lote 10060295-D)

- 5-Fluorouracil (Sigma Chemical Co., St. Louis Mo, USA)
- Brij<sup>®</sup> 58 (ICI Specialty Chemicals, Polioxietilen (20) cetil eter).
- Fosfato de sodio dibásico heptahidratado (Prod. Químicos Monterrey, S.A.)
- Fosfato de potasio monobásico (Prod. Químicos Monterrey, S.A)
- Cloruro de Sodio (J.T.Baker NJ USA)
- Azona (Whitby Research, Inc, Richmond USA)
- Dermac SR-38<sup>®</sup> (4-deciloazolidin-2-ona, Pharmetrix, Menlo Park, USA)
- Etanol ( al 90%. Spectrum Chemical Mfg Corp.)
- Agua destilada
- Propilenglicol (Sigma Chemical Co., St. Louis Mo, USA).

#### b) APARATOS Y EQUIPOS

- Espectrofotómetro (Varian, Mod. Cary 1E 95031303, Australia)
- Balanza analítica (Sauter, Mod. KGD-7470, Baujahr 1976, Alemania)
- Celdas para espectro (Beckman CA, USA)
- Electrodo de pH (Pasco Scientific SE-9762, tipo CW 711, ser no. 36078/81, Escocia).
- Filtros de nylon millipore (Acrodisc, 0.45  $\mu\text{m}$  de diámetro, Millipore Corp., Bedford, MA).
- Celdas de difusión verticales, tipo Franz modificado (0.96 cm de diámetro, receptor capacidad de 1.5 ml).

### 4.3.2 MÉTODOS

#### a) OBTENCIÓN DEL TEJIDO ANIMAL

Las membranas utilizadas en las permeaciones, se aislaron de oreja de cerdo, la cual fue adquirida del Rastro de Cerro Gordo, Ecatepec, Estado de México.

Las membranas se obtuvieron de la manera siguiente :

- se cortó la oreja del cerdo y en seguida se aisló la piel de la parte exterior con ayuda de un bisturí,
- se le quitó a la piel todo residuo de músculo y tejido adiposo,
- se hidrató la piel en solución salina fisiológica mientras se estaba aislando, para evitar resequedad,
- se cortaron pequeños pedazos de piel,
- se envolvieron individualmente las membranas en papel aluminio y se mantuvieron en congelación hasta ser utilizadas (se congelaron por menos de cuatro semanas).

#### b) CURVAS DE CALIBRACIÓN

Se hizo una curva de calibración por triplicado para cada uno de los tres principios activos involucrados en el estudio, utilizando como medio de disolución solución buffer isotónica de fosfatos pH 7.4 . Las lecturas se hicieron a las longitudes de onda de máxima absorción ( $\lambda_{max}$ ) (anexo I).

A los datos obtenidos se les hizo la prueba de linealidad (regresión lineal y prueba del intercepto) (anexo I).

### c) DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD.

Se realizó la prueba de solubilidad para los tres principios activos en SBIF pH 7.4 (preparada de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 1988) y en propilenglicol (PG), siguiendo los pasos que se indican a continuación :

I) En viales pequeños, se colocaron 2 ml de SBIF pH 7.4 ó 2 ml de PG, según el caso, y se le agregó principio activo suficiente para saturar el medio.

II) los viales se mantuvieron a 37°C en baño maría, por 24 hrs.

las suspensiones se centrifugaron a 2500 revoluciones por minuto (rpm) tomando el sobrenadante para hacer las diluciones pertinentes con SBIF pH 7.4 y leer a la  $\lambda_{max}$ .

En el caso del Ibuprofeno debido a su baja solubilidad acuosa, se determinó también su solubilidad en SBIF + Brij 0.5% y SBIF pH 7.4 + Brij 1% , el cual fue utilizado posteriormente como solubilizante en las experiencias de permeación.

### d) PRUEBA DE INTERACCIÓN Y/O INTERFERENCIA DE LOS COMPONENTES DE LA MEMBRANA.

Con la finalidad de determinar el efecto que pudieran ejercer los componentes de la membrana y el uso de Brij sobre la solución receptora (SBIF pH 7.4) durante las permeaciones, se hizo una prueba, de acuerdo al siguiente orden :

\* secciones de tejido aislado se pusieron en contacto con SBIF pH 7.4 durante 24 horas, en baño maría a 37°C con agitación constante,

\* se retiró la membrana y se procedió a centrifugar a 2500 rpm y filtrar dicha solución a través de filtros Millipore 0.45  $\mu$ m,

\* se agregó Brij suficiente para obtener una solución al 1%,



\* la solución obtenida se utilizó como medio para preparar curvas de calibración para cada uno de los principios activos,

\* se hicieron las lecturas de las muestras en el espectrofotómetro para verificar la  $\lambda_{\text{máx}}$ ,

\* a las curvas obtenidas se les hizo la prueba de linealidad (regresión lineal), precisión (CV) y prueba del intercepto.

\* se analizaron y compararon estadísticamente las curvas obtenidas con y sin tejido.

#### e) CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LAS PERMEACIONES SIN Y CON PROMOTOR.

La metodología seguida durante las permeaciones, fue la siguiente:

- se sumergieron las secciones de tejido en SBIF pH 7.4 por 5 minutos para descongelarlas,
- enseguida se montaron en las celdas de permeación, colocando en el compartimento receptor 1.5 ml de SBIF pH 7.4 + Brij 1% y 2 ml de SBIF pH 7.4 en el donador. Las celdas se introdujeron en un baño de agua a 37°C con agitación constante, dejando hidratar por 30 minutos,
- pasado este tiempo se extrajo la solución tanto del compartimento donador como del receptor, sustituyéndose en el compartimento donador por 100  $\mu$ l de una suspensión saturada del principio activo en PG (excepto en el blanco, donde se agregaron 100  $\mu$ l de PG) y en el receptor por 1.5 ml de SBIF pH 7.4 + Brij 1%. En el caso de las permeaciones con promotor, antes de realizar este paso se agregaron 100  $\mu$ l de la solución del promotor en PG (0.4 M) y se dejó por 1 hora. Enseguida se retiró la solución mencionada con algodón y se sustituyó por la suspensión del principio activo en PG.

- las celdas permanecieron las 24 hrs en un baño de agua a 37°C y con agitación, muestreándose todo el volumen receptor (1.5 ml) y cambiándose por solución fresca, a las 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 24 hrs,
- cada muestra fue leída en el espectrofotómetro a la  $\lambda$  máx indicada para cada uno de los fármacos,
- las membranas fueron retiradas de las celdas, enjuagadas y cortadas en trocitos para sumergirse en 5 ml de etanol y permanecer en ellas 24 hrs con la finalidad de extraer el fármaco que pudiera haber sido retenido ; esta solución etanólica se diluyó en 50 ml de SBIF + Brij 1% y se le determinó su absorbancia,
- finalmente se determinó la cantidad de fármaco permeado a cada tiempo y se construyó un gráfico de la cantidad acumulada en función del tiempo, utilizándose solo los datos obtenidos hasta las 7 hrs para realizar la regresión correspondiente.

## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 5.1 CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN SOLUCIÓN BUFFER ISOTÓNICA DE FOSFATOS pH 7.4 con y sin membrana (piel de cerdo).

TABLA 2. RESULTADOS DE LA REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE 5-FLUOROURACILO CON Y SIN MEMBRANA

Curva	$r^2$	b	m	media	s	cv (%)
sin membrana	0.9992	-0.0185	0.0438	0.0429	0.000828	1.93
con membrana	0.9989	-0.0164	0.0388	0.03797	0.00229	5.95

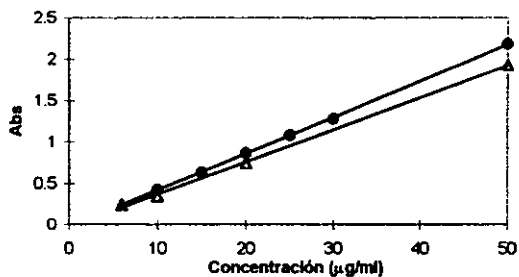


FIGURA 15. Curvas de Calibración de 5-Fluorouracilo ( $\lambda$  max= 265 nm)

• sin membrana       $\Delta$  con membrana

TABLA 3. RESULTADOS DE LA REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE CAFEINA CON Y SIN MEMBRANA

Curva	$r^2$	b	m	media	s	cv(%)
sin membrana	0.9980	0.0195	0.0480	0.0490	0.00126	2.58
con membrana	0.9959	0.0315	0.0439	0.0456	0.0024	5.30

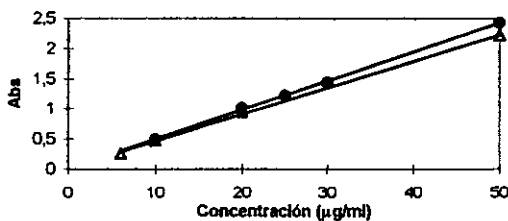


FIGURA 16. Curvas de Calibración de Cafeína ( $\lambda = 272$  nm)

• sin membrana       $\Delta$  con membrana

TABLA 4. RESULTADOS DE LA REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE IBUPROFENO CON Y SIN MEMBRANA

Curva	$r^2$	b	m	media	s	cv(%)
sin membrana	0.9993	0.0207	0.0419	0.0430	0.00112	2.59
con membrana	0.9971	0.0534	0.0296	0.0333	0.0019	5.75

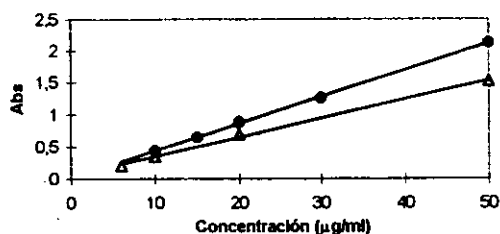


FIGURA 17. Curvas de Calibración de Ibuprofeno ( $\lambda$  max= 221 nm)

● sin membrana      ▲ con membrana

A cada una de las curvas anteriores se le realizó una prueba de t para el intercepto, no encontrándose evidencia estadística de que éste sea diferente de cero.

Con la finalidad de comparar las dos curvas de calibración sin membrana y con membrana se realizó una prueba de t, de donde se determinó que para las curvas de calibración de Cafeína, con un  $\alpha=0.05$  e incluso con  $\alpha=0.01$  no se rechaza  $H_0$  ( $H_0$ : no hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin membrana;  $H_1$ : si hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin membrana) y ya que no existe diferencia significativa entre ambas curvas, se considera que no existe una interferencia de los componentes de la membrana sobre la cuantificación de este principio activo. No es el mismo caso para 5- Fluorouracilo e Ibuprofeno, los cuales con ninguno de los dos  $\alpha$  mencionados (0.05,0.01) logra no rechazarse  $H_0$  indicando que

hay una diferencia significativa entre las dos curvas obtenidas (anexo I), por lo cual si existe una interferencia de los componentes de la membrana sobre la cuantificación de los principios activos.

Dado que dos de los tres principios activos sufren interferencia por los componentes de la membrana, entonces se decidió utilizar las curvas de calibración con membrana para determinar las concentraciones de los tres principios activos en el compartimento receptor.

## 5.2 DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD

Mediante esta prueba se determinó la solubilidad de los principios activos en el vehículo (propilenglicol), como en el medio receptor (SBIF pH 7.4). Debido a la baja solubilidad del Ibuprofeno en la SBIF pH 7.4, se decidió utilizar también Brij al 1% para aumentar la solubilidad. De este modo se decidió que el compartimento receptor sería de SBIF pH 7.4 + Brij al 1% para todas las permeaciones de los tres principios activo.

**TABLA 5. RESULTADOS DE SOLUBILIDAD**

<b>Principio activo</b>	<b>Medio de disolución</b>	<b>Solubilidad (mg/ml)</b>
5-Fluorouracilo	propilenglicol	<b>20.7698 ± 0.7788</b>
5-Fluorouracilo	SBIF	<b>15.8600 ± 0.5303</b>
Cafeína	propilenglicol	<b>17.4466 ± 0.9168</b>
Cafeína	SBIF	<b>26.6240 ± 1.0483</b>
Ibuprofeno	propilenglicol	<b>260.2992 ± 17.2347</b>
Ibuprofeno	SBIF	<b>1.3423 ± 0.0184</b>
Ibuprofeno	SBIF + Brij al 0.5%	<b>1.8151 ± 0.219</b>
Ibuprofeno	SBIF + Brij al 1%	<b>3.0959 ± 0.0641</b>

### 5.3 CINÉTICA DE PERMEACIÓN DE LOS TRES PRINCIPIOS ACTIVOS SIN PROMOTOR.

En la figura 18, que presenta la cinética de permeación de los tres principios activos sin promotor, se observa un flujo de fármaco que sigue el siguiente orden : 5-FU > Caf > Ib coincidiendo éste orden con el del Log P(octanol/agua) de cada uno de los principios activos ( 5-FU=-0.95, Caf=-0.07 e Ib=3.51). De acuerdo a lo encontrado, cuando el coeficiente de partición es mayor, como es el caso del Ibuprofeno, el flujo es menor ( tabla 6); ésto puede atribuirse a la mayor afinidad del fármaco por los componentes de naturaleza lipofílica de la membrana, reteniéndose una cantidad mayor de fármaco en la membrana y siendo menor la cantidad de fármaco que pasa al compartimento receptor, como se muestra en la figura 23. Así, los resultados obtenidos presentan un comportamiento que coincide con lo esperado, en base a las propiedades fisicoquímicas de los fármacos.

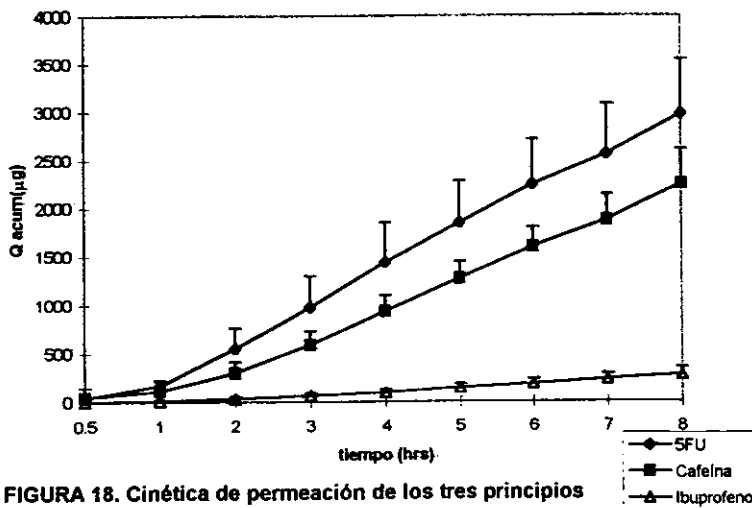


FIGURA 18. Cinética de permeación de los tres principios activos sin promotor a través de piel de cerdo. n=5 +/- s.

#### 5.4 CINÉTICA DE PERMEACIÓN DE 5-FLUOROURACILO

En la figura 19 puede hacerse una comparación visual del efecto de los promotores utilizados sobre el flujo de 5-FU. Aquí puede verse que cuando el promotor empleado es la Azona<sup>®</sup>, el flujo se ve aumentado ( $FP = 1.3297$ ), mientras que cuando se trata del Dermac SR-38<sup>®</sup> (4-deciloxazolidin-2-ona) entonces el efecto es el contrario ( $FP = 0.6570$ ), siendo el flujo con el primer promotor casi del doble que con el segundo.

Una observación importante es que con el Dermac SR-38<sup>®</sup> se presenta un cambio en la pendiente aproximadamente entre las 3 y 4 hrs después del inicio de la permeación, con una disminución en el flujo ( $J$ ) (Tabla 6) y en los logaritmos de la constante de permeación ( $\text{Log } K_p$ ) experimentales (tabla 7), en donde para la permeación con Dermac SR-38<sup>®</sup> la constante de permeación es menor ( $\text{Log } K_p = -5.3038$ ) que la obtenida con Azona<sup>®</sup> ( $\text{Log } K_p = -4.9977$ ) o que la experiencia sin promotor ( $\text{Log } K_p = -5.1215$ ).

La cantidad de 5-FU acumulado en el compartimento receptor a las 24 hrs, sin promotor y con los dos promotores utilizados, se presenta gráficamente en la figura 22. La comparación estadística de la media de estas cantidades (anexo II) muestra que no existe una diferencia entre ellas ( $F_{\text{exp}} = 1.2068$ ;  $F_{0.05, 2, 12} = 3.89$ ).

La cantidad de 5-FU retenido en el tejido al final de la permeación, sin promotor y con los dos promotores utilizados, se muestra en la figura 23 y estadísticamente tampoco existe una diferencia entre las cantidades retenidas.

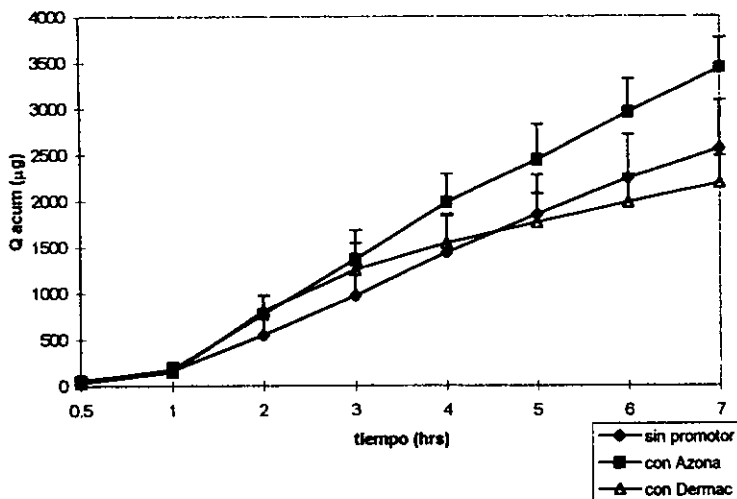


FIGURA 19. Cinética de permeación de 5-Fluorouracilo a través de piel de cerdo. n=5 +/- s

No hay que olvidar que el vehículo utilizado (PG) juega un papel fundamental y que como ya se mencionó en la introducción, puede tener así mismo un efecto modulador sobre la penetración. Diversos estudios, entre ellos el realizado por M. Goodman y W. Barry<sup>(31)</sup> han mostrado que el pretratamiento de la piel con PG incrementa la penetración del 5-FU después de las 24 hrs, demostrando que el glicol actúa como un promotor ejerciendo además un efecto sinérgico en la capacidad promotora de la Azona®.

De acuerdo a los valores de flujo reportados en la Tabla 6, la Azona no incrementa significativamente la velocidad de permeación para este principio activo (FP=1.3297). El mecanismo de acción de la Azona está íntimamente ligado a su capacidad para interactuar con los lípidos de la membrana, aumentando su fluidez y por tanto disminuyendo su resistencia como barrera de permeación; sin embargo, de acuerdo a los resultados



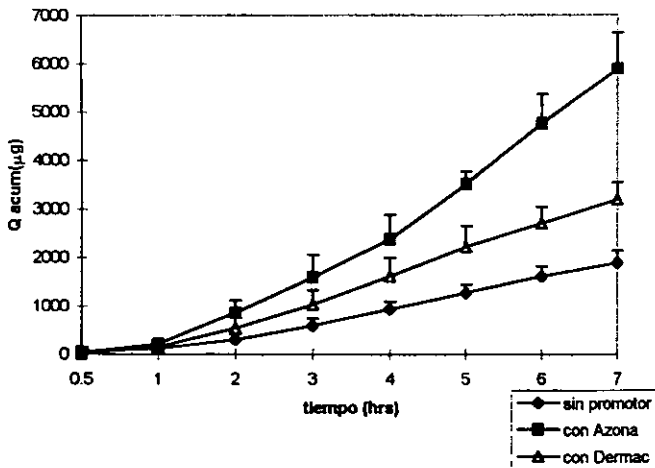
obtenidos, el desarreglo lipídico causado por éste promotor, no afecta la vía de entrada del 5-FU, el cual se presume penetra por regiones de naturaleza hidrofílica.

En el caso del Dermac SR-38<sup>®</sup> el flujo se ve ligeramente disminuido (FP=0.6570) y aún cuando se carece de referencias sobre el modo de acción de este promotor, los resultados parecen indicar que actúa retardando la velocidad de permeación del 5-FU. Posiblemente la inserción del Dermac SR-38<sup>®</sup>, con una estructura semejante a la de las ceramidas cutáneas, afecta la partición del 5-FU entre el vehículo y el tejido, dificultando su penetración en las regiones intercelulares cuyo carácter es fundamentalmente lipofílico.

## 5.5 CINÉTICA DE PERMEACIÓN DE CAFEÍNA

Para la Cafeína el flujo se ve incrementado con los dos promotores (figura 20) siendo mayor con Azona<sup>®</sup> (FP=3.1421) que con Dermac SR-38<sup>®</sup> (FP=1.6057). Así, el flujo con el primer promotor es casi el doble que con el segundo. La tendencia de las tres rectas es semejante, cambiando un poco con la Azona<sup>®</sup>, en donde a partir de la hora 3 hay un aumento considerable en el flujo.

Respecto a los Log Kp obtenidos experimentalmente para la Cafeína (tabla 7), tenemos que la mayor constante de permeación la presenta la Azona<sup>®</sup> (Log Kp=-4.6482), siendo menores para Dermac SR-38<sup>®</sup> (LogKp=-4.9398) y para la experiencia sin promotor (Log Kp=-5.1454), correspondiendo al mismo orden que siguieron con los flujos: Azona<sup>®</sup> > Dermac SR-38<sup>®</sup> > sin promotor.



**FIGURA 20. Cinética de permeación de Cafeína a través de piel de cerdo. n=5 +/- s**

En un estudio reportado por Phillips y Michniak<sup>(34)</sup> para la permeación de Cafeína a través de piel de ratón se determinó que el flujo, la cantidad acumulada a las 24 hrs y la cantidad retenida en el estrato córneo se veían favorecidos notablemente con Azona<sup>®</sup>.

Este resultado puede entonces corroborarse con los resultados obtenidos en el presente estudio (ver figura 22, figura 23 y tabla 6).

Estadísticamente se comprueba que existe diferencia significativa entre la cantidad de Cafeína acumulada en el compartimento receptor a las 24 hrs ( $F_{exp}=7.6613$ ;  $F_{0.05,2,12}=3.89$ ). Por medio de una prueba de Duncan se determina que dichas diferencias son significativas entre las permeaciones :

- Azona y sin promotor y
- Azona y Dermac SR-38<sup>®</sup>

pero no hay diferencia significativa entre Dermac SR-38<sup>®</sup> y la experiencia sin promotor (anexo II).

Respecto a la cantidad retenida por el tejido, la prueba de Duncan muestra que existe diferencia significativa entre las permeaciones :

- sin promotor y con Azona®
- con Azona y con Dermac SR-38®.

Sin embargo no existe diferencia significativa entre la cantidad retenida durante la permeaciones de Azona® y Dermac SR-38®.

El Dermac SR-38® no aumenta significativamente el flujo de Cafeína ni la cantidad retenida en el tejido, por lo que se puede decir que no tiene un aparente efecto promotor sobre este principio activo.

## 5.6 CINÉTICA DE PERMEACIÓN DE IBUPROFENO

Para el Ibuprofeno (figura 21) el flujo se ve favorecido con ambos promotores, siendo ligeramente mayor el flujo con Azona®(FP=3.1336) que con Dermac SR-38® (FP=2.2193) ( ver tabla 6). Los tres perfiles de permeación siguen la misma tendencia. En la tabla 7 se incluyen los Log Kp experimentales para el Ibuprofeno, de donde observamos que el valor mayor le corresponde a la permeación con Azona® (Log Kp= -6.6962), siguiéndole, en orden descendente, la permeación con Dermac R-38® (Log Kp = -6.8461) y siendo la menor la experiencia sin promotor (Log Kp= -7.1923), correspondiendo también al orden que siguieron los flujos: Azona® > Dermac SR-38® > sin promotor. Los resultados muestran que tanto Azona® como Dermac SR-38® aumentan el flujo y la cantidad acumulada en el receptor a las 24 hrs.

Para la cantidad de Ibuprofeno acumulada en el compartimento receptor a las 24 hrs (figura 22) se determinó, por medio de un análisis de varianza (anexo II), que existe diferencia significativa entre las cantidades acumuladas a las 24 hrs durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup> ( $F_{exp}=37.4204$ ;  $F_{0.05,2,12}=3.89$ ). Por medio de una prueba de Duncan se determina que existen diferencia entre las permeaciones :

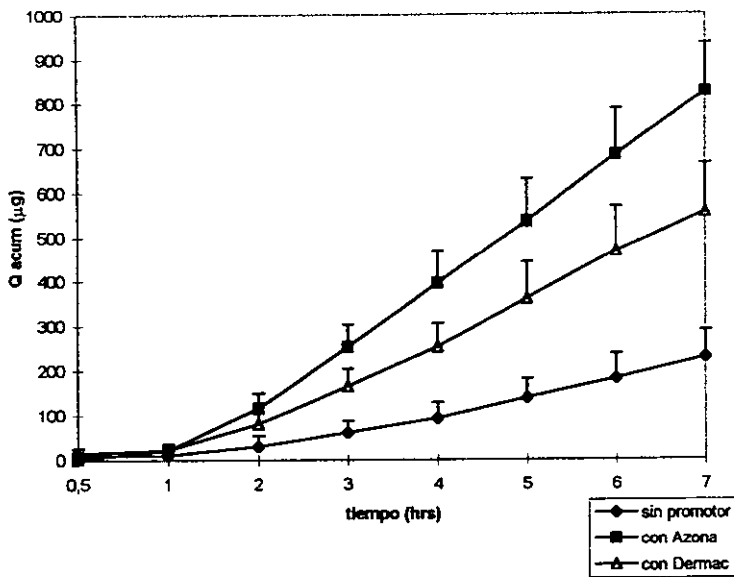
- sin promotor y con Azona<sup>®</sup>
- sin promotor y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

De manera que no hay diferencia entre la cantidad permeada a las 24 hrs con ambos promotores.

Respecto a la cantidad retenida por el tejido (figura 23), la Prueba de Duncan mostró que existe diferencia significativa entre las permeaciones :

- sin promotor y con Azona<sup>®</sup>
- con Azona y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

Como puede verse en la figura 23, la cantidad retenida en la membrana es mucho mayor con Azona<sup>®</sup>, lo que podría indicar un aumento en la afinidad del fármaco por el tejido y por tanto en el coeficiente de partición tejido/vehículo con éste promotor.



**FIGURA 21. Cinética de permeación de Ibuprofeno a través de piel de cerdo. n=5 +/- s**

En la tabla 6 se presenta el flujo (J) de los tres principios activos con y sin promotor, y con el factor de promoción (FP), el cual se calculó dividiendo el J con promotor entre J sin promotor. Se considera entonces que el FP sin promotor es 1.

Los resultados mostrados en el presente estudio no coinciden con lo reportado por Phillips y Michniak <sup>(34)</sup> quienes utilizaron piel de ratón como modelo animal, la cual hidrataron por una hora, colocando en el compartimento donador 50 µl de suspensión del fármaco en PG y en el compartimento receptor buffer pH 7.2, acompañado de formaldehído como preservativo y polioxietilen 20-cetiléter como solubilizador ; obtuvieron FP de 14.94, 6.30 y 1.19 para 5-FU, Cafeína e Ibuprofeno, respectivamente, con Azona como promotor. Estos FP son diferentes a los obtenidos en el presente estudio (tabla 6), en donde los FP con Azona <sup>®</sup>siguen el siguiente orden: Cafeína ≈ Ibuprofeno > 5 Fluorouracilo.

TABLA 6. FLUJOS (J) Y FACTOR DE PROMOCIÓN (FP) DE LOS TRES PRINCIPIOS ACTIVOS

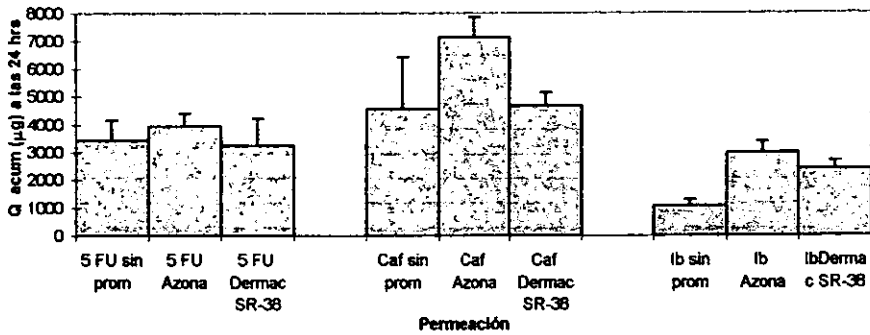
Principio activo	Sin promotor		Con Azona®		Con Dermac SR-38®	
	J (µg/hrcm <sup>2</sup> )	FP	J (µg/hrcm <sup>2</sup> )	FP	J (µg/hrcm <sup>2</sup> )	FP
<b>5 Fluorouracil</b>	565.3265 ±106.3400 (1-7)	<b>1.0000</b>	751.7015 ±72.8699 (1-7)	<b>1.3297</b>	371.4339 ±29.6989 (2-7)	<b>0.6570</b>
<b>Cafeína</b>	449.3484 ±95.9561 (2-8)	<b>1.0000</b>	1411.8998 ±143.9642 (2-7)	<b>3.1421</b>	721.5018 ±86.8513 (1-7)	<b>1.6057</b>
<b>Ibuprofeno</b>	60.1873 ±17.9329 (2-8)	<b>1.0000</b>	188.6039 ±25.9009 (2-7)	<b>3.1336</b>	133.5752 ±32.1429 (2-7)	<b>2.2193</b>

(-) = intervalo de horas utilizado para obtener el valor de J.

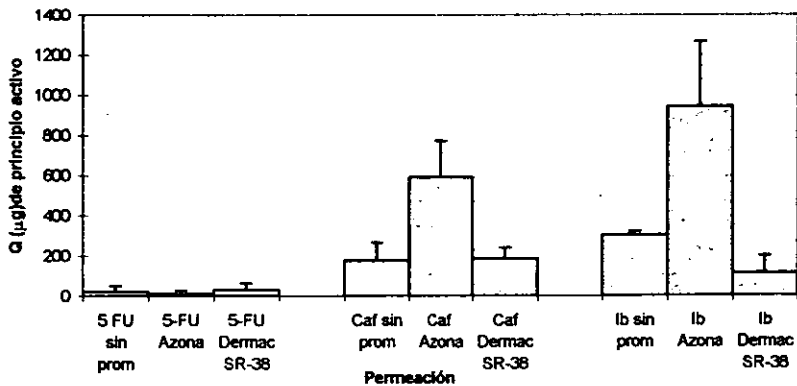
Como se mencionó anteriormente estos mismos autores han observado que cuando se usa este promotor se ve aumentada la cantidad acumulada a las 24 hrs, la permeabilidad y la cantidad retenida en el estrato córneo. Este comportamiento coincide para la Cafeína y el Ibuprofeno, pero no para el 5-Fluorouracilo (anexo II).

Un análisis global de los resultados nos permite observar que para el Ibuprofeno la cantidad en el receptor aumenta con Dermac SR-38® mientras que la cantidad acumulada en el tejido disminuye (aunque estadísticamente no hay diferencias entre Dermac SR-38® y sin promotor en la cantidad retenida).

En el caso del 5-FU, a pesar de que el flujo se ve disminuido con el Dermac SR-38® después de la tercera hora, no hay diferencias significativas entre las cantidades retenidas en el tejido ni en las encontradas e el receptor a las 24 hrs, para ninguna de las experiencias realizadas.



**FIGURA 22.** Gráfica de cantidad de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 24 hrs n=5 +/- s.  
 5-FU= 5 Fluorouracilo, Caf= Cafeína, Ib= ibuprofeno



**FIGURA 23.** Gráfica de la cantidad de principio activo retenida en la membrana al final de la permeación n=5 +/- s.  
 5-FU= 5-Fluorouracilo, Caf= Cafeína, Ib= Ibuprofeno

TABLA 7. CONSTANTES EXPERIMENTALES DE PERMEACIÓN.

PRINCIPIO ACTIVO	LOG Kp		
	sin promotor	con Dermac SR-38®	con Azona®
5-Fluorouracilo	- 5.1215	- 5.3038	- 4.9977
Cafeína	- 5.1454	- 4.9398	- 4.6482
Ibuprofeno	- 7.1923	- 6.8461	- 6.6962

Para los tres principios activos es mayor el flujo cuando se utiliza la Azona® que cuando se utiliza el Dermac SR-38® lo que indica, a reserva de hacer estudios con un mayor número de fármacos, que la Azona mostró ser más efectiva con fármacos de lipofilicidad media o alta (como son Cafeína e Ibuprofeno).

Por su parte el Dermac SR-38® tiene aparentemente un factor de promoción que aumenta conforme va aumentando la lipofilicidad de los principios activos (tabla 6), lo que indica aparentemente que actúa mejor con fármacos más lipofílicos y conforme la lipofilicidad disminuye el flujo puede incluso llegar a verse afectado y disminuir como en el caso del 5-FU (ver figura 19). Pfister y Rajadhyaksha <sup>(52)</sup> reportan que el Dermac SR-38® es efectivo cuando se usa en concentraciones entre 1 y 10% promoviendo el paso de activos hidrofílicos y lipofílicos; lo anterior se concluyó a partir de que el Dermac SR-38® fue formulado en cremas hidrofílicas y soluciones hidroalcohólicas y evaluada in vitro por su capacidad de promover la liberación local de varios activos a través de estrato córneo humano. En el presente estudio se utilizó a una concentración de 8.78% (0.4 M) y los resultados obtenidos fueron diferentes a lo mencionado por dichos autores.

En la literatura se reporta la capacidad de la Azona® para actuar con fármacos tanto lipofílicos como hidrofílicos <sup>(34)</sup>, siendo su estructura muy importante para este efecto; la cadena hidrocarbonada le imparte características tanto hidrofílicas como lipofílicas



ayudándole a su partición entre las sustancias lipofílicas y el campo proteico hidrofílico de la membrana, fluidizando probablemente los lípidos y ayudando al fármaco a pasar.

El Dermac SR-38<sup>®</sup> es un uretano cíclico que tiene una cabeza polar, un anillo oxazolidina y un tallo lipofílico; el mecanismo de acción de las oxazolidinas no ha sido minuciosamente investigado, se cree que es similar a otros promotores, como la Azona, al tener características estructurales similares<sup>(33)</sup>. En base a otros estudios reportados<sup>(34,32)</sup> se sabe que los promotores con una cadena hidrocarbonada larga de 10 a 12 carbonos son promotores efectivos. Este promotor cuenta con una cadena de 10 carbonos. Los análogos cíclicos de la Azona, como lo es el 4-decioxazolidín-2-ona, son mejores promotores que los acíclicos, es posible que los pequeños anillos heterocíclicos tengan una fácil intercalación entre los lípidos fuertemente empacados del estrato córneo y sea mayor el desorden de los lípidos y la creación de los poros para difusión pasiva en una coadministración con fármaco, favoreciendo el paso de sustancias lipofílicas. Además las cadenas alquílicas cerca de la cabeza polar de los grupos, le imparten características fluidizantes a la molécula, ayudando así a incrementar el coeficiente de difusión. Este promotor tiene un HBL =10, lo cual le asigna una lipofílicidad intermedia y al ser una molécula lipofílica (no polar), al igual que la Azona<sup>®</sup>, es posible que penetre a través de una vía lipídica intercelular.

Es importante mencionar que la combinación Azona+PG incrementa la penetración a través del estrato córneo al afectar tanto la ruta hidrofílica como la ruta lipofílica de penetración. La Azona<sup>®</sup> desordena el empaquetamiento de los lípidos, los hace más fluidos y flexibles mientras el PG podría producir un incremento marginal en la fluidez lipídica, podría solvatar el tejido y formar uniones de hidrógeno con grupos polares sobre las cadenas de queratina y desplazar las uniones de proteína con agua<sup>(31)</sup>, ayudando a la Azona<sup>®</sup> a su mejor partición dentro de las regiones acuosas<sup>(34)</sup>. En el caso de fármacos poco lipofílicos, el

incremento en la fluidez de las regiones lipofílicas del estrato córneo debido a la actividad del promotor no afecta significativamente la difusión, como en el caso del 5-FU, pero sí podría hacerlo cuando los fármacos son de una lipofílicidad mayor como en el caso de la Cafeína y el Ibuprofeno. Sería de gran importancia también conocer el efecto que se produce con la combinación de PG+Dermac SR-38<sup>®</sup> para poder hacer una comparación entre ambas combinaciones y saber cual de ellas se ve más favorecida.

## 6. CONCLUSIONES

Los resultados presentados en éste estudio nos permiten llegar a las conclusiones siguientes :

1. La Azona<sup>®</sup> mostró ser más efectiva como promotor de absorción con los fármacos de lipofílicidad media (Cafeína) o alta (Ib) empleados en este trabajo.
2. El Dermac SR-38<sup>®</sup> promovió la difusión del fármaco más lipofílico (Ib) pero retardó la del fármaco más hidrofílico (5-FU).
3. La relación entre el grado de lipofílicidad de los principios activos y la efectividad de los promotores debe ser corroborada mediante el estudio de un mayor número de moléculas.
4. Conocer las características fisicoquímicas de los fármacos y de los promotores es decisivo en la optimación de su uso.

5. El conocimiento de la cinética de permeación de los promotores ayudará a la búsqueda y prueba de nuevas moléculas con potencial promotor y al desarrollo de formas farmacéuticas de aplicación tópica.

## **7. RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS**

- La elección del tejido animal utilizado debe de ser cuidadosa respecto al tratamiento que se da en el rastro. El hecho de que el animal sea sopleteado para eliminar el pelo influye directamente en la composición de la membrana o bien en la destrucción del folículo piloso alterando de manera no conveniente los resultados obtenidos. Debe evitarse el uso de piel tratada de esta manera.
- Sería de gran utilidad establecer un valor fijo para el grosor de la membrana, ya que el grosor del tejido en la oreja varía de una región a otra y esta es una variable que no se controló en este estudio y que influye en la variación de los datos obtenidos. Se recomienda además, estandarizar el grosor mediante cortes con dermatoma.
- Este trabajo es solo una parte de lo que puede aún estudiarse respecto al uso de promotores en la industria Farmacéutica, quedan aún muchas moléculas permeantes que pudieran probarse y recibir el beneficio de poder ejercer su acción terapéutica dentro del

organismo al ser administrados por vía tópica, ya sea de manera local o sistémica, sin ser destruidas por efecto del primer paso hepático.

- Las investigaciones futuras deben encaminarse a realizar más permeaciones con 4-deciloxazolidin-2-ona haciendo combinaciones con propilenglicol y con otros vehículos para conocer el efecto que esto produce sobre la membrana y sobre el flujo de los fármacos.
- Sería de gran utilidad conocer el mecanismo de acción de los nuevos promotores, ya que su estudio ayuda al fortalecimiento de asignaturas como Farmacología, que incluye dentro de su programa el tema de “transporte a través de membranas biológicas”, o de Biofarmacia, en donde se estudian la difusión y los modelos compartimentales.
- El tema de los promotores de absorción es lo suficientemente amplio como para incluirse dentro de un Seminario de Titulación.
- Como base para la formulación de sistemas transdérmicos, el conocimiento del uso y optimización de promotores puede incluirse en el desarrollo de medicamentos y por ende en su fabricación.

## 8. REFERENCIAS

1. Wilkinson J B., More R.J. Cosmetología de Harry. Ed. Díaz de Santos. México, 1990.  
pp 3-7
2. Jacob S.W. Anatomía y fisiología humana. Ed. Interamericana. 4a.edición. México,  
1982. pp 78-83
3. Schottelius B.A., Schottelius D.D. Textbook of Physiology. The C.U. Mosby Company.  
8 edición. USA,1978. pp 487
4. Weiss L., Greep R.O. Histology. McGraw Hill. 4a edición. USA, 1977. pp 586
5. Bloom W., Fawcett W. A Textbook of histology. Saunders Company. 9 edición. USA,  
1986. p 490
6. Wertz P.W., Hoogstraate A.J., Squier C.A. Biochemical basis of the permeability barrier  
in skin and oral mucosa. In : Rathbone J.M. (Ed). Oral mucosal drug delivery. Marcel  
Dekker. Vol 74. USA,1996. pp 27- 49
7. Guy R.H. Current status and future prospects of transdermal drug delivery. *Pharm.Res.*  
13 (1996) 1765-1769
8. Barry B.W. Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Cont.Rel.* 6  
(1987) 85-97
9. Wertz P.W., Downing D.T. Production of stratum corneum. In : Hadgraft J., Guy R.H.  
Transdermal drug delivery. Ed. Dekker. USA, 1989. Vol 35. pp 2-15
10. Ganem-Quintanar A., F-Rieg F., Buri P. Contribution of lipid components to the  
permeability barrier of oral mucosa. *European Journal of Pharmaceutics and  
Biopharmaceutics.* 44(1997) 107-120

11. Wertz P.W., Cho W.S., Downing D.T. Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat. *Biochim.Biophys.Acta.* **753**(1983) 350-355
12. Squier C.A., Cox P., Wertz P.W. Lipid content and water permeability of skin and oral mucosa. *J.Invest.Dermatol.* **96**(1991) 123-126
13. Squier C., Cox P., Wertz P.W., Downing D.T. The lipid composition of porcine epidermis and oral epithelium. *Arch.Oral.Biol.* **31**(1986) 741-748
14. Wertz P.W., Swartzendruber D.C., Squier C.A. Regional variation in the structure and permeability of oral mucosa and skin. *Adv.Drug Deliv.Rev.* **12**(1993) 1-12
15. Wertz P.W., Kremer M., Squier C.A. Comparison of lipids from epidermal and palatal stratum corneum. *J.Invest.Dermatol.* **98**(1992) 375-378
16. Chang F., Swartzendruber D.C., Wertz P.W., Squier C.A. Covalently bound lipids in keratinizing epithelia. *Biochim.Biophys.Acta.* **1150** (1993) 98-102
17. Winsor T., Burch G.E. Differential roles of layer of human epigastric skin on diffusion of water. *Arch. Int.Med.* **74** (1944) 428-444
18. Blank I.H. Cutaneous barriers. *J. Invest. Dermatol.* **45**(1965) 249-256
19. Blank I.H. Further observations on factors which influence the water content of the stratum corneum. *J. Invest. Dermatol.* **45**(1953) 159
20. Sheuplein R.J. Percutaneous absorption after twenty-five years : or "old wine in new skins" . *J Invest. Dermatol.* **67**(1976) 31-38
21. Breathnach A.S., Goodman T., Stolinski C., Gross M. Freeze fracture replication of cells of stratum corneum of human epidermis. *J. Anat.* **144** (1973) 65-81
22. Schreiner E., Wolff K. Permeabilität des epidermalen Interzellularraumes für kleinmolekulare Proteine. *Arch Klin. Exp. Dermatol.* **253**(1966) 78

23. Squier C.A., The permeability of keratinized and nonkeratinized oral epithelium barrier to diffusion. *J. Invest. Dermatol.* 55 (1970) 135-140
24. Kligman A. m. the biology of the stratum corneum. The Epidermis. Academic Press Editores, New York, 1964. P.387
25. Elias P.M., McNutt N. S., Friend S.D. Membrane alterations during cornification of mammalian squamous epithelia: Afreeze-fracture, tracer and thin-section study. *Anat. Rec.* 189(1977) 577-594
26. Elias P.M. The importance of epidermal lipids for the stratum corneum barrier. In : Osborne D.W., Amann A.H. Topical drug delivery formulations Ed. Dekker. USA, 1990. Vol 42. Pp 13-25
27. Barry B.W : Lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement. *J.Cont.Rel.* 15 (1991) 237-248
28. Barry B.W. Dermatological Formulations : Percutaneous Absorption. Marcel Dekker. New York, 1983.
29. Walkers K. A. Penetration enhancers and their use in transdermal therapeutic systems. In : Hadgraft J., Guy R.H. Transdermal drug delivery. Drug and the Pharmaceutical Science. Marcel Dekker. USA, 1989. Vol 35. pp 203-229
30. Potts P.O., Francoeur M.L : Stratum corneum permeability and lipid free volume fluctuations. *Pharm Res.* 7(1990)
31. Goodman M., Barry B.W. Lipid-protein-partitioning (LPP) theory of skin enhancer activity : finite dose technique. *Int.J Pharm.* 57(1989) 29-40

32. Hadgraft J. Physicochemical determinants of skin penetration enhancement. 3<sup>rd</sup>.Jerusalem Conference on Pharmaceutical Science and Clinical Pharmacology. Jerusalem, 1996
33. The Merk Index. Decimo segunda edición. Merk & Co.,Inc. USA, 1996. pp 920
34. Phillips C.A., Michniak B.B. Transdermal delivery of drugs with differing lipophilicities using Azone analogs as dermal penetration enhancers. *J.Pharm.Sci.* **84**(1995) 1427-1433
35. Goodman M., Barry B.W : Differential scanning calorimetry (DSC) of human stratum corneum : effect of Azone. *J.Pharm.Pharmacol.* **37**(1985)
36. Turunen T.M., Urtti A., Paronen P., Audus K.L., Rytting J.H. Effect of some penetration enhancers on epithelial membrane lipid domains : evidence from fluorescence spectroscopy studies. *Pharm.Res.* **11**(1994) 288-294
37. Pharmetrix. Ficha técnica para el SR-38.4(Dermac SR-38).TSD 7-17-97.USA, 1997
38. Martin Alfred. Physical Pharmacy. Lea & Febiger. 3 edición. USA, 1983. Pp 399-408
39. Gummer C.L : The in vitro evaluation of transdermal delivery. In : Hadgraft J., Guy R.H. Transdermal drug delivery. Ed. Dekker. USA, 1989. Vol.35. pp 177-196
40. Aguiar A.J., Weiner M.A. *J.Pharm. Sci.* Percutaneous absorption studies of Chloramphenicol solutions. **58**(1969) 210
41. Biber M.Z., Rhoders C.T. *J. Pharm. Sci.* Improved transport apparatus for examining diffusion of drug across isolated tissues and synthetic membranes.**65**(1976) 564
42. Scheuplein R.J. Mechanism of percutaneous absorption. I Routes of penetration and the influence of solubility. *Invest Dermatol.* **45**(1965) 334
43. Wurster D.E., Ostrenga J.A., Matheson L. E. Jr. Sarin transport across excised human skin I : Permeability and adsorption characteristics. *J. Pharm Sci.* **68**(1979) 1406-1409



44. Lesch C.C., Squier C.A., Cruzhley A., Williams D.M., Speight P. The permeability of human oral mucosa and skin to water. *J. Dent. Res* 68(1989) 1345-1349
45. Schaefer H., Redelmeier T.E. Skin barrier. Principles of percutaneous absorption. Karger. Switzerland, 1996. pp 129
46. Squier C.A., Cox P.S., Wertz D.W. Lipid content and water permeability of human skin and oral mucosa. *J. Invest. Dermat.* 96(1991) 123-126
47. Squier C.A., Cox P.S., Wertz D.W. , Downing D.T : The lipid composition of porcine epidermis and oral epithelium. *Archs Oral Biol.* 31(1986) 741-747
48. Clarke E.G.C. Isolation and identification of drugs. The Pharmaceutical Press. 2<sup>nd</sup> edition. London (1986) pp 627
49. Clarke E.G.C. Isolation and identification of drugs. The Pharmaceutical Press. 2<sup>nd</sup> edition. London (1986) pp 420,421
50. Zubair M.U., Hassan M.M.A., Al-Meshal I.A. Caffeine. In: Florey K. Analytical profiles of drug substances. Academic of Pharmaceutical Science. Vol 15.1975 pp 71-137
51. Clarke E.G.C. Isolation and identification of drugs. The Pharmaceutical Press. 2<sup>nd</sup> edition. London (1986) pp 677,678
52. Pfister W., Rajadhyaksha V.J. Oxazolidinones : a new class of cyclic urethane transdermal enhancers (CUTE). *Pharm Res.* PHREB 12 (1995) S280
53. Rajadhyaksha V.J., Pfister W.R. Oxazolidinones : optimizing delivery of active ingredients in skin care products. *Drug and Cosmetic Industry.* March 1996.

## AGRADECIMIENTOS

Tec. Rodolfo Robles. FES Cuautitlán. UNAM, por su asistencia técnica en la digitalización de imágenes.

QFB Héctor Briseño Magaldi por su asesoría técnica.

QFB Luis Morales Ponce. Helm de México, por su asesoría técnica.

Sr. Ignacio García Salgado. Base de datos de la Biblioteca de FES Cuautitlán, por su ayuda en la búsqueda de información documental.

## **9. ANEXOS**

### **ANEXO I.**

#### **RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS**

- **Curvas de calibración**
- **Prueba t para intercepto**
- **Comparación estadística de las dos curvas de calibración**

**CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN SBIF  
pH 7.4**

• **CURVA DE CALIBRACIÓN DE 5-FLUOROURACILO**

CONC (mg/ml)	Abs	
10	0,4228	$r = 0.9996$
10	0,4137	$r^2 = 0.9992$
10	0,442	$b = -0.0185$
15	0,6318	$m = 0.0438$
15	0,6368	
15	0,6371	media = 0.0429
20	0,8354	desv est = 0.00085
20	0,8923	cv = 1.98 %
20	0,8693	
25	1,0717	
25	1,0817	
25	1,0811	
30	1,2874	
30	1,2682	
30	1,2811	
50	2,1762	
50	2,1673	
50	2,1984	

• **CURVA DE CALIBRACIÓN DE CAFEINA**

CONC (mg/ml)	Abs	
10	0,4818	
10	0,4949	
10	0,498	$r = 0.9990$
20	1,0156	$r^2 = 0.9980$
20	1,0143	$b = 0.0194$
20	1,0061	$m = 0.0480$
25	1,1723	
25	1,2408	media = 0.0489
25	1,2369	desv est = 0.0013
30	1,4564	cv = 2.58 %
30	1,3931	
30	1,4559	
50	2,4353	
50	2,4033	
50	2,4462	

• CURVA DE CALIBRACIÓN DE IBUPROFENO

CONC (mg/ml)	Abs	
10	0,4399	
10	0,4396	
10	0,4333	$r = 0.9993$
15	0,6355	$r^2 = 0.9986$
15	0,6752	$b = 0.0207$
15	0,6361	$m = 0.0419$
20	0,8668	
20	0,891	$media = 0.0430$
20	0,8723	$desv\ est = 0.0011$
30	1,2649	$cv = 2.59\ %$
30	1,2186	
30	1,2787	
50	2,1041	
50	2,1192	
50	2,1434	

**CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN SBIF pH 7.4 PRE-EQUILIBRADA CON PIEL DURANTE 24 HRS.**

• 5-FLUOROURACILO

CONC (mg/ml)	Abs	
6	0,2416	$r = 0.9995$
6	0,2505	$r^2 = 0.9989$
6	0,2450	$b = -0.0164$
10	0,3602	$m = 0.0388$
10	0,3464	
10	0,3479	media = 0.0380
20	0,7464	desv est = 0.0023
20	0,7403	cv = 5.95 %
20	0,7441	
50	1,953	
50	1,9145	
50	1,925	

• CAFEINA

CONC (mg/ml)	Abs	
6	0.2608	
6	0.2619	
6	0.2612	$r = 0.9980$
10	0,4828	$r^2 = 0.9959$
10	0,4752	$b = 0.0315$
10	0,4787	$m = 0.0439$
20	0,9752	
20	0,9843	media = 0.0457
20	0,8797	desv est = 0.0024
50	2,1221	cv = 5.30 %
50	2,239	
50	2,276	

• IBUPROFENO

CONC (mg/ml)	Abs	
6	0.2002	
6	0.2033	
6	0.2041	$r = 0.9971$
10	0,3496	$r^2 = 0.9942$
10	0,3379	$b = 0.0534$
10	0,343	$m = 0.0296$
20	0,6841	
20	0,7046	media = 0.0333
20	0,6987	desv est = 0.0019
50	1,4495	cv = 5.76 %
50	1,5511	
50	1,5562	

A cada una de las curvas anteriores se le realizó una prueba de t para el intercepto, planteando las siguientes hipótesis :

$H_0$  : no hay evidencia estadística de que el intercepto sea diferente de cero.

$$b = 0$$

$H_1$  : hay evidencia estadística de que el intercepto sea diferente de cero.  $b \neq 0$

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

Curva	intercepto	n	media	$\Sigma x$	$\Sigma x^2$	$\Sigma y$	$\Sigma y^2$
Ibuprofeno	0.0207	5	25	125	4125	5.3395	7.4910
Cafeína	0.0194	5	27	135	4525	6.5636	10.7044
5-FU	-0.0185	6	25	150	4750	6.4648	8.8886
Ibuprofeno con memb	0.0534	4	21.5	86	3036	2.7608	2.9528
Cafeína con memb	0.0315	4	21.5	86	3036	3.8989	6.0944
5-FU con memb	-0.0164	4	21.5	86	3036	3.2716	4.4653

Curva	$Sy^2$	$Sx^2$	$Sxy$	$t_{exp}$	$t_{teórica}$ ( $\alpha/2, gl_{n-2}$ )	resultado
Ibuprofeno	0.4393	250	0.0230	0.9909	3.18	No se rechaza $H_0$
Cafeína	0.5089	220	0.0519	0.3686	3.18	No se rechaza $H_0$
5-FU	0.3846	200	0.0338	0.6151	2.78	No se rechaza $H_0$
Ibuprofeno con memb	0.3491	395.6667	0.0605	1.1042	4.3	No se rechaza $H_0$
Cafeína con memb	0.7647	395.6667	0.0633	0.6223	4.3	No se rechaza $H_0$
5-FU con memb	0.5965	395.6667	0.0325	0.6301	4.3	No se rechaza $H_0$
					(0.05/2, 2)	rechaza $H_0$

En todas las curvas,  $t_{experimental} < t_{teórica}$ , de manera que no se rechaza  $H_0$  y se considera que el intercepto no es diferente de cero.



## COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LAS DOS CURVAS DE CALIBRACIÓN : CON Y SIN MEMBRANA.

Para ello realizamos primero una prueba de F para ver si las varianzas eran diferentes y en seguida una prueba de t para comparar las medias siendo de la siguiente manera :

### 5-FU

a) sin membrana			b) con membrana		
X	Y	Y/X	X	Y	Y/X
10	0,4262	0,0426	6	0,2457	0,0410
15	0,6352	0,0423	10	0,3515	0,0352
20	0,8657	0,0433	20	0,7436	0,0372
25	1,0782	0,0431	50	1,9308	0,0386
30	1,2789	0,0426			
50	2,1806	0,0436			

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>sin membrana</i>	<i>con membrana</i>
Media	0,042936944	0,037974
Varianza	2,31288E-07	5,95805E-06
Observaciones	6	4
Grados de libertad	5	3
F	0,038819456	
P(F<=f) una cola	0,988578354	
Valor critico para F (una cola)	0,110945031	

$H_0$  : no hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración de 5- Fluorouracilo.

$H_1$  : hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{calculada} < F_{critica}$ .

Dado que  $0.0388 < 0.1109$  entonces no se rechaza  $H_0$  y se considera que las varianzas son iguales.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>sin membrana</i>	<i>con membrana</i>
Media	0,042936944	0,037974
Varianza	2,31288E-07	5,95805E-06
Observaciones	6	4
Varianza agrupada	2,37882E-06	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	4,984985077	
P(T<=t) una cola	0,000536389	
Valor crítico de t (una cola)	1,85954832	
P(T<=t) dos colas	0,001072777	
Valor crítico de t (dos colas)	2,306005626	
$\alpha=0.05$		
$\alpha=0.01$	3,355380613	

$H_0$ : no hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.

$H_1$ : hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.

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

Debido a que  $4.9849 > 2.3060$  ( $\alpha=0.05$ ) y  $4.9849 > 3.3554$  ( $\alpha=0.01$ ) entonces se rechaza  $H_0$  y existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.

## CAFEINA

a) sin membrana			b) con membrana		
X	Y	Y/X	X	Y	Y/X
10	0,4916	0,0492	6	0,2613	0,0436
20	1,012	0,0506	10	0,4789	0,0479
25	1,2167	0,0487	20	0,9464	0,0473
30	1,4351	0,0478	50	2,2124	0,0442
50	2,4283	0,0486			

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>sin membrana</i>	<i>con membrana</i>
Media	0,048966133	0,045752
Varianza	1,05795E-06	4,7135E-06
Observaciones	5	4
Grados de libertad	4	3
F	0,224450688	
P(F<=f) una cola	0,875091245	
Valor crítico para F (una cola)	0,034830805	

$H_0$  : no hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración de Cafeína.

$H_1$  : hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración de Cafeína.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{calculada} < F_{critica}$ .

Dado que  $0.2244 > 0.0348$  entonces se rechaza  $H_0$  y se considera que las varianzas son diferentes.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>sin membrana</i>	<i>con membrana</i>
Media	0,048966133	0,045752
Varianza	1,05795E-06	4,7135E-06
Observaciones	5	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,726228121	
P(T<=t) una cola	0,02632368	
Valor crítico de t (una cola)	2,131846486	
P(T<=t) dos colas	0,052647359	
Valor crítico de t (dos colas)	2,776450856	
$\alpha=0.05$		
$\alpha=0.01$	4,604080459	

$H_0$  : no hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de Cafeína.

$H_1$  : hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de Cafeína.

No se rechaza  $H_0$  si  $t$  experimental <  $t$  crítica.

Debido a que  $2.7262 < 2.7765$  ( $\alpha=0.05$ ) y que  $2.7262 < 4.6041$  ( $\alpha=0.01$ ) entonces no se rechaza  $H_0$  y no existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de Cafeína.

## IBUPROFENO

a) sin membrana			b) con membrana		
X	Y	Y/X	X	Y	Y/X
10	0,4376	0,0438	6	0,2025	0,0338
15	0,6489	0,0433	10	0,3435	0,0344
20	0,8767	0,0438	20	0,6958	0,0348
30	1,2541	0,0418	50	1,5189	0,0304
50	2,1222	0,0424			

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>sin membrana</i>	<i>con membrana</i>
Media	0,043020467	0,033317
Varianza	7,70369E-07	4,0207E-06
Observaciones	5	4
Grados de libertad	4	3
F	0,191601965	
P(F<=f) una cola	0,897050902	
Valor critico para F (una cola)	0,109682929	

$H_0$  : no hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración de Ibuprofeno.

$H_1$  : hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración de Ibuprofeno.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{calculada} < F_{critica}$ .

Dado que  $0.1916 > 0.1097$  entonces se rechaza  $H_0$  y se considera que las varianzas son diferentes.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>sin membrana</i>	<i>con membrana</i>
Media	0,043020467	0,033317
Varianza	7,70369E-07	4,0207E-06
Observaciones	5	4
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	9,012384229	
P(T<=t) una cola	0,000419693	
Valor crítico de t (una cola)	2,131846486	
P(T<=t) dos colas	0,000839385	
Valor crítico de t (dos colas)	2,776450856	
$\alpha=0.05$		
$\alpha=0.01$	4,604080459	

Ho : no hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de Ibuprofeno.

H1 : hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de Ibuprofeno.

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

Debido a que  $9.0124 > 2.7765$  ( $\alpha=0.05$ ) y  $9.0124 > 4.6041$  ( $\alpha=0.01$ ) entonces se rechaza  $H_0$  y existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración de Ibuprofeno.

ANEXO II.  
RESULTADOS DE LAS PERMEACIONES DE LOS  
TRES PRINCIPIOS ACTIVOS

- Permeaciones de 5-Fluorouracilo

- Permeaciones de Cafeína

- Permeaciones de Ibuprofeno

- Comparación estadística de la cantidad de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones, de los tres principios activos, sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

- Comparación estadística de la cantidad de principio activo retenido en el tejido durante las permeaciones, de los tres principios activos, sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

## PERMEACIONES DE 5-FLUOROURACILO

### PERMEACIÓN DE 5-FLUOROURACILO SIN PROMOTOR

tiempo (hrs)	Q acum( $\mu\text{g}$ )					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	35,6211	39,4137	24,5722	65,1263	34,7899	39,9046	15,1325
1	182,9613	144,2436	84,4329	247,1211	168,2126	165,3943	59,1564
2	636,5799	415,5735	277,0515	846,6572	555,6070	546,2938	216,8154
3	1162,3531	863,3776	499,8247	1354,2758	995,2964	975,0255	323,1154
4	1769,0335	1301,4704	814,4845	1864,6469	1430,810	1436,089	418,0479
5	2246,4665	1702,9755	1209,092	2215,3376	1884,347	1851,644	425,5002
6	2724,6727	2073,8930	1517,567	2536,2758	2361,51	2242,790	470,8827
7	3125,9923	2272,5425	1804,732	2779,4304	2823,468	2561,233	522,2466
8	3529,6314	2516,5013	2236,546	3141,9974	3446,834	2974,302	573,0758
24	4121,3428	2642,6869	2657,814	3513,1624	4129,25	3412,850	739,6750

donad	579,2474	516,1237	422,2577	360,7732	612,9278	498,2660	105,7187
memb	69,4459	9,6392	0,0000	0,0000	22,9768	20,4124	28,9838

$r^2$	0,9974	0,992	0,9904	0,9783	0,9991
b	-320,1904	-252,4368	-306,2872	0,9301	-321,058
m (mg/hr)	503,1926	376,4691	298,257	422,7585	445,239
m/A(mg/ hrcm <sup>2</sup> )	695,209	520,1286	412,071	584,0819	615,1409

promedio 565,3263  
desv est 106,3400

$$J = 565,3263 \pm 106,34 \mu\text{g/hrcm}^2$$

\* intervalo de horas utilizadas para la regresión : 1-7



## PERMEACIÓN DE 5-FLUOROURACILO CON AZONA®

tiempo (hrs)	Q acum (µg)					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	26,5593	44,5206	79,1521	30,9356	103,4304	56,9196	33,1971
1	113,4510	138,3943	236,5825	144,3943	241,7474	174,9139	59,8175
2	547,2603	864,1237	996,7577	573,7500	878,4394	772,0662	200,0894
3	978,3557	1521,6920	1511,6714	1093,1869	1729,8441	1366,9500	317,2276
4	1585,8905	2022,1662	2177,3119	1752,0077	2353,8711	1978,2495	311,3587
5	1986,1237	2492,5090	2509,1057	2243,3312	3006,7771	2447,5693	378,5383
6	2544,0773	2920,2990	3023,7758	2770,8402	3522,8737	2956,3732	364,4097
7	3025,0322	3427,4188	3376,8286	3419,8144	3933,8930	3436,5974	324,2788
24	3382,9214	3920,7603	3776,8879	4011,1353	4624,8634	3943,3137	450,3764

donad	676,5309	11,9969	532,9948	431,8608	509,4742	432,5715	251,1964
memb	0	0	38,9948	13,0670	0	10,4124	16,9503

r <sup>2</sup>	0,9982	0,9906	0,9862	0,9976	0,9905
b	-422,2793	-223,3769	-91,4536	-481,8943	-282,1132
m (mg/hr)	490,5766	533,9372	516,8646	548,9495	630,0799
m/A (mg/hr cm <sup>2</sup> )	677,7793	737,6861	714,0986	758,427	870,5166

media            751,7015

desv est        72,8649

$$J = 751,7015 \pm 72,8649$$

µg/hrcm<sup>2</sup>

\* intervalo de horas utilizado para la regresión : 1 - 7

PERMEACIÓN DE 5-FLUOROURACILO CON DERMAC SR-38®

tiempo (hrs)	Q acum (µg)					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	37,0052	38,59020	72,6495	0,0000	1,7242	29,9938	30,1718
1	182,0954	130,1907	299,9343	52,5966	81,4252	149,2485	97,5832
2	804,5915	1002,054	953,4317	601,2603	687,6031	809,7881	170,3230
3	1385,022	1568,671	1422,974	920,5979	958,2989	1251,113	292,9554
4	1650,678	1926,700	1646,907	1221,182	1280,350	1545,162	292,4654
5	1921,229	2116,291	1901,737	1379,459	1515,139	1766,711	307,2324
6	2096,973	2305,222	2152,392	1583,072	1753,268	1978,185	299,2129
7	2277,657	2534,130	2357,919	1840,372	1910,188	2184,053	297,7681
24	3643,384	4732,716	2417,938	2884,708	2499,839	3235,717	967,0426

donad	1378,5309	830,0412	1058,2887	1369,4845	1378,2526	1202,9196	249,6404
memb	0	0	54,2912	20,6701	73,7887	29,7500	33,1446

r <sup>2</sup>	0,9454	0,9452	0,9801	0,9879	0,9897
b	432,9913	615,4646	522,2316	185,2094	228,0425
m (mg/hr)	279,1925	287,4178	270,4433	238,3217	249,5034
m/A (mg/hr cm <sup>2</sup> )	385,7316	397,0956	373,6437	329,2646	344,7132

media 371,4339  
desv est 29,6989

$$J = 371,4339 \pm 29,6989$$

µg/hrcm<sup>2</sup>

\* intervalo de horas utilizadas para la regresión : 2 - 7

b : ordenada al origen  
m : pendiente  
A = 0.7238 cm<sup>2</sup>

## PERMEACIONES DE CAFEÍNA

### PERMEACIÓN DE CAFEÍNA SIN PROMOTOR

tiempo (hrs)	Q acum (µg)					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	222,1298	8,8292	5,8292	5,7779	3,8679	49,2867	96,6385
1	305,7232	98,3166	73,4522	45,4374	30,5296	110,6918	112,0952
2	475,7494	322,9579	271,3292	237,4920	178,4043	297,1865	112,7942
3	719,5797	740,6276	532,7802	559,9237	397,4487	590,0719	142,0688
4	1063,2301	974,6173	872,3713	1074,584	676,4836	932,2573	164,4777
5	1346,3672	1363,6264	1179,1811	1448,033	1015,521	1270,546	172,6989
6	1536,0437	1698,2665	1450,7187	1910,477	1419,414	1602,984	203,0975
7	1685,7123	2027,1253	1753,0695	2258,156	1683,817	1881,576	253,4670
8	1829,3843	2328,0000	2251,0319	2806,705	2025,75	2248,167	368,5139
24	2505,5221	3572,0604	4539,8815	7538,563	4539,575	4539,120	1875,325

donad	3381,7039	1300,4282	2092,2232	650,9522	3424,387	2169,939	1236,065
memb	56,6970	96,2528	278,9294	204,7039	227,5968	172,8360	93,0368

r <sup>2</sup>	0,9752	0,9978	0,9925	0,9971	0,995
b	81,941	-312,0702	-412,4372	-661,3749	-525,0279
m (mg/hr)	230,928	332,5632	319,9298	426,4284	316,3428
m/A (mg/hr cm <sup>2</sup> )	319,049	459,4684	442,0141	589,1523	437,0583

media 449,3484

J= 449,3484 ± 95,9561

µg/hrcm<sup>2</sup>

desv est 95,9561

\* intervalo de hora utilizadas para  
la regresión : 2 - 8

**PERMEACIÓN DE CAFEÍNA  
CON AZONA®**

tiempo (hrs)	Q acum (µg)					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	23,1689	26,9696	33,41554	47,7973	6,7398	27,6182	14,9744
1	269,1943	145,9763	287,2854	276,3547	81,3547	212,0331	92,8815
2	937,2010	1026,0912	835,8598	1065,314	453,0304	863,4993	245,8892
3	1870,951	1774,7939	1427,0625	2017,429	850,4290	1588,133	466,1744
4	2892,5118	2609,7872	2107,3530	2633,017	1622,057	2372,945	506,9646
5	4077,2280	3679,9966	3285,2584	3790,125	2717,807	3510,083	526,1165
6	5485,9105	5050,7331	4425,8868	4909,951	3917,240	4757,945	603,2855
7	6899,8226	6041,4628	5674,4544	5981,747	4841,199	5887,737	741,2013
24	8261,4375	6961,8345	7302,1774	6802,753	6389,804	7143,601	705,7151

donad	6210,9730	5979,4054	6231,6486	6006,162	6241,622	6133,962	129,6963
memb	790,9459	431,9088	726,8412	373,5811	625,4899	589,7534	181,7925

r <sup>2</sup>	0,9925	0,9901	0,9803	0,9926	0,9793
b	-1685,839	-1261,532	-1459,347	-1025,426	-1744,467
m (mg/hr)	1195,5058	1027,8538	981,9243	983,3386	921,0579
m/A (mg/hr cm <sup>2</sup> )	1651,7074	1420,0799	1356,6238	1358,578	1272,51

media 1411,8998  
desv est 143,9642

$$J = 1411,8998 \pm 143,9642 \mu\text{g}/\text{hr}\text{cm}^2$$

\* intervalo de horas utilizado para la regresión : 2 - 7



## PERMEACIONES DE IBUPROFENO

### PERMEACIONES DE IBUPROFENO SIN PROMOTOR

tiempo (hrs)	Q acum (µg)					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	24,5473	2,4172	8,5236	0,0000	3,6284	7,8233	9,8516
1	29,4679	3,4865	10,7787	1,3733	6,4561	10,3125	11,2752
2	70,4848	7,4696	23,3260	25,5050	24,1520	30,1875	23,6929
3	99,6537	24,2635	57,2584	63,4814	60,8514	61,1017	26,7573
4	134,8328	38,4932	86,3868	109,6874	95,2703	92,93411	35,5257
5	176,5287	72,6182	122,3666	167,0928	157,2365	139,1686	42,4654
6	205,9915	98,5034	157,6064	238,4645	210,1520	182,1436	55,0522
7	240,4409	138,0304	206,4274	296,5793	266,2601	229,5476	60,9706
8	282,6030	174,1824	257,4274	360,0861	324,2534	279,7105	70,8614
24	822,7652	869,6959	1248,238	1311,249	1065,740	1063,537	218,5324

donad	6590,372	11822,351	7946,696	9073,520	8182,399	8723,068	1947,553
memb	313,3108	292,4662	286,6892	298,1419	325,1689	303,1554	17,0229

$r^2$	0,998	0,9753	0,9894	0,9922	0,9918
b	-3,6893	-61,5775	-61,2956	-105,357	-92,0469
m (mg/hr)	35,3245	28,1315	-39,3107	57,097	50,9287
m/A (mg/hr cm <sup>2</sup> )	48,7369	38,8664	52,6347	78,885	70,3629

media 60,1873

$$J = 60,1873 \pm 17,9329 \mu\text{g}/\text{hrcm}^2$$

desv est 17,9329

\* intervalo de horas utilizado para la regresión : 2 - 8

PERMEACIÓN DE IBUPROFENO CON AZONA®

tiempo (hrs)	Q acum (µg)					media	desv est
	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5		
0,5	0,8108	1,0642	3,4662	0	0	1,0682	1,4229
1	35,9392	17,7872	21,1216	9,2635	21,1622	21,0547	9,6342
2	138,0861	143,8176	143,0321	76,7483	77,8226	115,9013	35,3218
3	254,5084	300,7399	305,5946	211,9307	195,7348	253,7017	50,0277
4	377,6959	465,4459	477,9628	338,0068	322,5709	396,3365	71,8160
5	504,4105	624,6791	644,7973	451,7078	450,1824	535,1554	93,7616
6	643,4696	780,0051	803,6655	607,4899	582,5524	683,4365	101,6407
7	783,1216	926,0726	953,3818	750,4713	701,9544	823,0003	110,8220
24	3013,769	2432,781	3395,970	3245,052	2852,696	2988,053	374,0833

donad	1223,027	1235,554	1168,845	1238,655	1288,946	1231,005	42,9067
memb	442,8041	1145,878	1301,909	872,1284	940,3885	940,6216	326,0262

r <sup>2</sup>	0,9974	0,9991	0,9986	0,9927	0,9924
b	-109,2836	-151,8032	-158,2238	-154,181	-136,329
m (mg/hr)	125,0791	154,3275	159,1807	125,8887	118,0815
m/A (mg/hr cm <sup>2</sup> )	172,809	213,2184	219,9235	173,9275	163,1411

media

$$J = 188,6039 \pm$$

88,6039

25,9009

µg/hrcm<sup>2</sup>

desv est

25,9809

\* intervalo de horas utilizado para la  
regresión : 2 - 7

**PERMEACIÓN DE IBUPROFENO CON  
DERMAC SR-38®**

Q acum (µg)

tiempo (hrs)	muestra 1	muestra 2	muestra 3	muestra 4	muestra 5	media	desv est
0,5	0	23,7973	27,2331	7,1959	8,0169	13,2486	11,6873
1	21,6486	34,1402	38,1486	7,3682	8,0169	21,8645	14,2987
2	50,2601	69,3497	116,6554	82,2872	82,1554	80,1415	24,2450
3	134,7568	146,0118	226,2264	135,8311	184,2466	165,4145	39,5103
4	248,8885	211,4645	343,8142	218,6250	244,7838	253,5152	53,0027
5	416,1588	287,8834	473,3108	294,9223	332,4223	360,9395	80,9092
6	545,4628	381,7449	598,4088	372,0608	437,8784	467,1111	100,6908
7	655,8547	469,5152	680,5034	443,4223	522,7601	554,4111	108,0714
24	2411,448	2032,596	2348,392	2874,517	2245,652	2382,521	310,3393

donad	12223,34	18283,01	11515,13	16647,69	23419,95	16417,82	4852,617
memb	0,0000	155,9459	36,8750	171,0304	192,1284	111,1959	86,6327

r <sup>2</sup>	0,9925	0,9961	0,997	0,9976	0,9958
b	-227,3352	-97,0052	-116,1928	-75,227	-91,6353
m (mg/hr)	126,496	79,5556	116,151	74,0189	87,1873
m/A (mg/hrcm <sup>2</sup> )	174,7665	109,9138	160,4739	102,2643	120,4577

media 133,5752

**J = 133,5752 ±  
32,1425**

**µg/hrcm<sup>2</sup>**

desv est

32,1425

\* intervalo de horas utilizado para la regresión : 2 - 7

b : ordenada al origen

m : pendiente

A = 0.7238 cm<sup>2</sup>



**COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LA CANTIDAD DE PRINCIPIO ACTIVO ACUMULADO EN EL COMPARTIMENTO RECEPTOR A LAS 24 HRS, DURANTE LAS PERMEACIONES, DE LOS TRES PRINCIPIOS ACTIVOS, SIN PROMOTOR, CON AZONA® Y CON DERMAC SR-38®.**

5-FU (µg)					
	sin promotor	con Azona®	con Dermac SR-38®	suma	
	4121,3428	3382,9214	3643,384	11147,6482	n = 5
	2642,6869	3920,7603	4732,7165	11296,1637	j = 3
	2657,8144	3776,8879	2417,9381	8852,6404	N=15
	3513,1624	4011,1353	2884,7088	10409,0065	
	4129,2448	4624,8634	2499,8389	11253,9471	
suma	17064,2513	19716,5683	16178,5863	52959,4059	
Ri <sup>2</sup>	291188672	388743066	261746655	2804698673	
	FC=	186979911			

**ANOVA**

FV	SC	GL	CM	F	F de tablas
Columnas	1355766,97	2	677883,486	1,20682162	3,89 (0,05,2, 12)
Error	6740517,14	12	561709,761		
Total	8096284,11	14			

H<sub>0</sub>: no hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona® y con Dermac SR-38®.

$H_1$  : hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{cal} < F$  de tablas.

Dado que  $1.2068 < 3.98$  no se rechaza  $H_0$  y por lo tanto se considera que no hay diferencia significativa entre las cantidades de 5-Fluorouracilo acumulado en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

CAFEINA (µg)

	sin promotor	con Azona <sup>®</sup>	con Dermac SR-38 <sup>®</sup>	suma	n = 5 j = 3 N=15
	2505,5221	8261,4375	5124,8405	15891,8001	
	3572,0604	6961,8345	4754,672	15288,5669	
	4539,8815	7302,1774	4668,3861	16510,445	
	7538,563*	6802,7534	3852,3246	18193,641	
	4539,5747	6389,8014	4858,0011	15787,3772	
suma	22695,6017	35718,0042	23258,224	81671,830	
Ri <sup>2</sup>	515090337	1275775824	540944998	6670287848	

FC = 444685857

ANOVA

FV	SC	GL	CM	F	F de tablas
Columnas	21676375,1	2	10838187,5	7,66138096	3,89 (0,05,2, 12)
Error	16975823,4	12	1414651,95		
Total	38652198,5	14			

\* Este valor fue eliminado para realizar la Prueba de Duncan, ya que al ser muy elevado genera una desviación estándar muy grande y diferente a la de los otros dos grupos. La Prueba de Duncan requiere de que las desviaciones de los tres grupos a comparar sean cercanas

H<sub>0</sub>: no hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

H<sub>1</sub>: hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

No se rechaza H<sub>0</sub> si F cal < F de tablas.

Dado que  $7.6614 > 3.98$  se rechaza  $H_0$  y por lo tanto se considera que hay diferencia significativa entre las cantidades de Cafeína acumulada en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona® y con Dermac SR-38®.

### PRUEBA DE DUNCAN

Cantidad acumulada de Cafeína a las 24 hrs ( $\mu\text{g}$ )			
	sin promotor	con Azona	con Dermac
media	3789.2597	7143,6008	4651,6449
desv est	839.8555	705,7151	478,6191
sp =	675.8572		
df = 11			

Para muestras de	2	3
Rango de significancia	3,08	3,23
Rango mínimo significativo	2081.6402	2183.0188
	sin promotor	con Dermac
	4539,1203	4651,6449
		con Azona
		7143,6008

con Azona - sin promotor =	2604,4805	> 2183.0188	diferencia significativa
con Azona - con Dermac =	2491,9559	> 2081.6402	diferencia significativa
con Dermac - sin promotor =	112,5246	< 2081.6402	diferencia no significativa

**IBUPROFENO ( $\mu\text{g}$ )**

	sin promotor	con Azona <sup>®</sup>	con.Dermac SR-38 <sup>®</sup>	suma	j = 3 n = 5 N=15
	822,7652	3013,7686	2411,4476	6247,9814	
	869,696	2432,7821	2032,5963	5335,0744	
	1248,2382	3395,9696	2348,3919	6992,5997	
	1311,2483	3245,0524	2874,5169	7430,8176	
	1605,7399	2852,6959	2245,652	6704,0878	
suma	5857,6876	14940,2686	11912,6047	32710,5609	
Ri <sup>2</sup>	34312504	223211626	141910151	1069980794	

$$FC = 71332053$$

**ANOVA**

FV	SC	GL	CM	F	F de tablas
Columnas	8554803,16	2	4277401,58	37,420419	3,89 (0,05,2, 12)
Error	1371679,42	12	114306,618		
Total	9926482,58	14			

$H_0$  : no hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

$H_1$  : hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{cal} < F$  de tablas.

Dado que  $37.4204 > 3.98$  se rechaza  $H_0$  y por lo tanto se considera que hay diferencia significativa entre las cantidades de Ibuprofeno acumuladas en el compartimento receptor a las 24 hrs, durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

PRUEBA DE DUNCAN

Cantidad acumulada de Ibuprofeno a las 24 hrs (µg)

	sin promotor	con Azona	con Dermac
media	1063,5375	2988,0537	2382,5209
desv est	218,5324	374,0833	310,3393

sp = 307.6823  
df = 12

Para muestras de	2	3
Rango de significancia	3,08	3,23
Rango mínimo significativo	947.6615	993.8138

sin promotor		
	con Dermac	con Azona
1063,5375	2382,5209	2988,0537

con Azona - sin promotor =	1924,5162	> 993.8138	diferencia significativa
con Azona - con Dermac =	605,5328	< 947.6615	diferencia no significativa
con Dermac - sin promotor =	1318,9834	> 947.6615	diferencia significativa

**CANTIDAD DE PRINCIPIO ACTIVO RETENIDO EN EL TEJIDO  
DURANTE LAS PERMEACIONES, DE LOS TRES PRINCIPIOS ACTIVOS,  
SIN PROMOTOR, CON AZONA® Y CON DERMAC SR-38®**

	sin promotor	5-FU (µg) con Azona®	con Dermac SR-38®	suma	n = 5 j = 3 N=15
	69,4459	0	0	69,4459	
	9,6392	0	0	9,6392	
	0	0	54,2912	54,2912	
	0	38,9948	20,6701	59,6649	
	22,9768	13,067	73,7887	109,8325	
suma	102,0619	52,0618	148,75	302,8737	
Ri^2	10416,6314	2710,43102	22126,5625	91732,4782	

$$FC = 6115,498543$$

**ANOVA**

FV	SC	GL	CM	F	F de tablas
Columnas	935,226447	2	467,613223	0,63022376	3,89 (0,05,2, 12)
Error	8903,75615	12	741,979679		
Total	9838,98259	14			

$H_0$ : no hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona® y con Dermac SR-38®.

$H_1$ : hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona® y con Dermac SR-38®.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{calc} < F_{de\ tablas}$ .

Dado que  $0.6302 < 3.89$  entonces no se rechaza  $H_0$  y se considera que no hay diferencia significativa entre las cantidades de 5-Fluorouracilo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona® y con Dermac SR-38®.

	CAFEINA ( $\mu\text{g}$ )			suma	n = 5
	sin promotor	con Azona	con Dermac		
	56,697	790,9959	112,8815	960,5744	j = 3
	96,2528	431,9088	191,3667	719,5283	N=15
	278,9294	726,8412	265,7517	1271,5223	
	204,7039	373,5811	155,7631	734,0481	
	227,5968	625,4899	191,3326	1044,4193	
suma	864,1799	2948,8169	917,0956	4730,0924	
Ri <sup>2</sup>	746806,9	8695521,11	841064,34	22373774,1	

$$FC = 1491584,94$$

#### ANOVA

FV	SC	GL	CM	F	F de tablas
Columnas	565093,529	2	282546,764	18,8907818	3,89 (0,05,2, 12)
Error	179482,311	12	14956,8592		
Total	744575,839	14			

$H_0$ : no hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

$H_1$ : hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{\text{calc}} < F_{\text{de tablas}}$ .

Dado que  $18.8908 > 3.89$  entonces se rechaza  $H_0$  y se considera que hay diferencia significativa entre las cantidades de Cafeína retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.



PRUEBA DE DUNCAN

		Cantidad de Cafeina retenida en el tejido ( $\mu\text{g}$ )		
		sin promotor	con Azona	con Dermac
media		172,836	589,7539	183,4191
desv est		93,0368	181,7925	56,2247
sp =		122.2914		
df = 12				

Para muestras de	2	3
Rango de significancia	3,08	3,23
Rango mínimo significativo	376.6575	395.0013

sin		
promotor	con Dermac	con Azona
172,836	183,4191	589,7539

con Azona - sin promotor =	416,9179	> 395.0013	diferencia significativa
con Azona - con Dermac =	406,3348	> 376.6576	diferencia significativa
con Dermac - sin promotor =	10,5831	< 376.6576	diferencia no significativa

IBUPROFENO ( $\mu\text{g}$ )					
	sin promotor	con Azona <sup>®</sup>	con Dermac SR-38 <sup>®</sup>	suma	j = 3 n = 5 N = 15
	313,3108	442,8041	0	756,1149	
	292,4662	1145,8784	155,9459	1594,2905	
	286,6892	1301,9088	36,875	1625,473	
	298,1419	872,1284	171,0304	1341,3007	
	325,1689	940,3885	192,1284	1457,6858	
suma	1515,777	4703,1082	555,9797	6774,8649	
Ri <sup>2</sup>	2297579,91	22119226,7	309113,427	45898794,4	

FC = 3059919,63

#### ANOVA

FV	SC	GL	CM	F	F de tablas
Columnas	1885264,39	2	942632,194	24,7956912	3,89 (0,05,2, 12)
Error	456191,611	12	38015,9676		
Total	2341456	14			

$H_0$ : no hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

$H_1$ : hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

No se rechaza  $H_0$  si  $F_{\text{calc}} < F_{\text{de tablas}}$ .

Dado que  $24,7957 > 3,89$  entonces se rechaza  $H_0$  y se considera que hay diferencia significativa entre las cantidades de Ibuprofeno retenidas en el tejido durante las permeaciones sin promotor, con Azona<sup>®</sup> y con Dermac SR-38<sup>®</sup>.

PRUEBA DE DUNCAN

Cantidad de Ibuprofeno retenida en el tejido ( $\mu\text{g}$ )			
	sin promotor	con Azona	con Dermac
media	303,1554	940,6216	111,1959
desv est	17,0229	326,0262	86,6327
sp =	195.0112		
df = 12			

Para muestras de	2	3
Rango de significancia	3,08	3,23
Rango mínimo significativo	600.6344	629.8861
	con Dermac	sin promotor
	111,1959	303,1554
		con Azona
		940,6216

con Azona - sin promotor =	829,4257	> 629.8861	diferencia significativa
con Azona - con Dermac =	637,4662	> 600.6344	diferencia significativa
con Dermac - sin promotor =	191,9595	< 600.6344	diferencia no significativa

Las  $K_p$  experimentales se calcularon con la siguiente fórmula :

$$K_p = (V_R/AC_D) * (dC_R/dt)$$

donde :

$K_p$  : coeficiente de permeabilidad (cm/s)

A : área (cm<sup>2</sup>)

$V_R$  : volumen del receptor (cm<sup>3</sup>)

$C_D$  : concentración del donador ( $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ )

( $dC_R/dt$ ) : pendiente obtenida de las regresiones de Q acum en función del tiempo.