

57
25



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS
PROMOTORES DE ABSORCION
(AZONA Y 4-DECILOXAZOLIDIN-2-DNA)
SOBRE LA PENETRACION DE
FARMACOS A TRAVES DE MUCOSA
ORAL NO QUERATINIZADA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :
ITZIA ROSENDO VALDES

ASESORES: DRA. F. ADRIANA GANEM RONDERO
Q.F.B. SERGIO A. GALINDO RODRIGUEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX. 1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

278258



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ 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 la TESIS

"Estudio del efecto de dos promotores de absorción (Azona y 4-declioxazolidin-2-ona) sobre la penetración de fármacos a través de mucosa oral no queratinizada."

que presenta la pasante Itzia Rosendo Valdés
con número de cuenta 9140753-9 para obtener el TÍTULO de
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 17 de Marzo de 1999.

PRESIDENTE	<u>M. en C. Luisa Martínez Aguilar</u>
VOCAL	<u>M. en C. Francisco López Mejía</u>
SECRETARIO	<u>Dra. Flora Adriana Ganem Rondero</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. José A. Garduño Rosas</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M. en C. Rafael Villalobos García</u>

“Cualquiera que hayan sido nuestros logros, alguien nos ayudó siempre a alcanzarlos”

Oliver Wendell Holmes.

DEDICATORIAS

A mis padres

Reconociendo que el mejor ejemplo de responsabilidad, fuerza y amor que tengo, ha sido demostrado por ustedes.

A Itzel

Gracias por todos los momentos que compartimos, por ser la mejor confidente y sobretodo la más linda hermana.

A mis abuelitos Severina, Rosa y Abel

Por el simple hecho de estar a mi lado y por todo el cariño que siempre me han brindado

A Aníbal

No tengo con que agradecer el apoyo, cariño, confianza y amor que me ofreces en todo momento. Por que éste trabajo lleva tu compañía incondicional. Te amo.

Para ese ser tan especial que desde el cielo me cuida.

AGRADECIMIENTOS

A la Sección de Química Medicinal, en especial al M. en C. Alberto Ramírez Murcia y al Dr. Enrique Ángeles Anguiano.

A Adriana Ganem Rondero, por su amistad y por la oportunidad que me brindó al trabajar con ella.

A mis amiguitos: Julio, Moni, Kari, Rocío y Jacob, por que con ustedes aprendí que el estudio en equipo es una experiencia fantástica y divertida.

ÍNDICE

Índice de figuras.....	i
Índice de tablas.....	ii
Índice de abreviaturas.....	iii
Capítulo I. MARCO TEÓRICO.....	1
1. Introducción.....	1
2. Mucosa oral.....	3
2.1. Fisiología y morfología de la mucosa bucal.....	3
2.2. Composición química de la mucosa bucal.....	8
2.3. Semejanzas de la mucosa bucal humana con la mucosa bucal de los animales de laboratorio.....	10
2.4. Diferencias de la mucosa bucal con otras mucosas.....	11
2.5. Localización de la barrera de permeación en la mucosa bucal.....	13
2.6. Formación de la barrera de permeación en la mucosa bucal.....	15
3. Promotores de absorción.....	16
3.1. Definición de promotor de absorción.....	16
3.2. Mecanismos de acción de los promotores de absorción.....	16
3.3. Clasificación de los promotores de absorción.....	18
3.4. Promotores de absorción utilizados en el estudio.....	19
3.4.1. Azona.....	19
3.4.2. Dermac SR-38 (4-deciloazolidin-2-ona).....	20
3.4.3. Propilenglicol.....	21
4. Fenómeno de permeación.....	23
4.1. Primera ley de Fick.....	23
4.2. Dispositivos de permeación mucosal.....	26
Capítulo II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	29
Capítulo III. PARTE EXPERIMENTAL.....	30
1. Materiales.....	30
1.1. Material.....	30
1.2. Reactivos.....	30
1.3. Equipo.....	30

2. Metodología.....	31
2.1. Curvas de calibración.....	31
2.2. Pruebas de solubilidad.....	31
2.3. Permeaciones.....	31
Capítulo IV. RESULTADOS.....	33
1. Curvas de calibración.....	33
1.1. Cafeína.....	33
1.2. Ibuprofeno.....	33
1.3. 5-Fluorouracilo.....	34
2. Pruebas de solubilidad.....	34
3. Permeaciones.....	35
Capítulo V. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	38
Capítulo VI. CONCLUSIONES.....	43
Capítulo VII. PERSPECTIVAS.....	44
REFERENCIAS.....	45
ANEXO.....	50
a1. Monografía de los principios activos utilizados.....	50
Cafeína.....	50
Ibuprofeno.....	52
5-Fluorouracilo.....	54
a2. Análisis estadístico de las curvas de calibración.....	56
Cafeína.....	56
Ibuprofeno.....	58
5-Fluorouracilo.....	60
a3. Análisis estadístico de la cantidad de fármaco depositado en la mucosa.....	62
Cafeína.....	62
Ibuprofeno.....	63
5-Fluorouracilo.....	64
a4. Datos numéricos de las cinéticas de permeación.....	65
Cafeína.....	65
Ibuprofeno.....	67
5-Fluorouracilo.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS.

<u>Fig. 1.</u>	Las regiones de la cavidad oral ⁵²	3
<u>Fig. 2.</u>	Organización de la mucosa oral ⁵²	5
<u>Fig. 3.</u>	La mucosa de la cavidad oral (corte transversal del tejido) ⁵²	6
<u>Fig. 4.</u>	Representación celular de los estratos del epitelio no queratinizado con organelos ^{44,54} ...	8
<u>Fig. 5.</u>	Rutas de penetración de sustancias exógenas ⁴	17
<u>Fig. 6.</u>	Estructura molecular de la Azona [®]	19
<u>Fig. 7.</u>	Estructura molecular del SR-38.....	21
<u>Fig. 8.</u>	Estructuras lipídicas de la membrana celular en el tratamiento con agua y Azona [®] ⁴ ...	22
<u>Fig. 9.</u>	Celda de difusión ⁵⁵	26
<u>Fig. 10.</u>	Celda de perfusión utilizada en estudios in vivo sobre mucosa bucal ⁵⁴	26
<u>Fig. 11.</u>	Celda de difusión de Aguiar y Weiner ⁵⁵	27
<u>Fig. 12.</u>	Celda de difusión de Wurster y col. ⁵⁵	27
<u>Fig. 13.</u>	Celda de difusión horizontal ⁵⁴	28
<u>Fig. 14.</u>	Celda de difusión vertical ⁵⁴	28
<u>Fig. 15.</u>	Curvas de calibración de Cafeína.....	33
<u>Fig. 16.</u>	Curvas de calibración de Ibuprofeno.....	33
<u>Fig. 17.</u>	Curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.....	34
<u>Fig. 18.</u>	Cinética de permeación de la Cafeína.....	35
<u>Fig. 19.</u>	Cinética de permeación del Ibuprofeno.....	36
<u>Fig. 20.</u>	Cinética de permeación del 5-Fluorouracilo.....	36
<u>Fig. 21.</u>	Cantidad de fármaco retenido en la mucosa oral de cerdo.....	36
<u>Fig. 22.</u>	Superficie del potencial electrostático de la Azona [®] (izq.) y del 4-deciloazolidin-2-ona Dermac SR-38 [™] (der.).....	40
<u>Fig. 23.</u>	Estructura molecular de la Cafeína.....	50
<u>Fig. 24.</u>	Espectro UV experimental de Cafeína.....	51
<u>Fig. 25.</u>	Estructura molecular del Ibuprofeno.....	52
<u>Fig. 26.</u>	Espectro UV experimental de Ibuprofeno.....	53
<u>Fig. 27.</u>	Estructura molecular del 5-Fluorouracilo.....	54
<u>Fig. 28.</u>	Espectro UV experimental de 5-Fluorouracilo.....	55

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla I.	Diferencias entre las regiones de la boca ⁵²	6
Tabla II.	Lípidos contenidos en la mucosa bucal de cerdo ^{12,44, 49}	9
Tabla III.	Diferencias de la mucosa bucal de diversas especies de animales ⁴⁴	10
Tabla IV.	Comparación de grosor ⁵⁶ (μm) y permeabilidad ⁴⁴ ($\text{Kp} \times 10^{-7} \text{ cm/min}$) de diferentes regiones del epitelio oral y de la piel de cerdo y humana.....	11
Tabla V.	Datos de grosor (μm) ⁸ y tipos de epitelio mucosal.....	13
Tabla VI.	Clasificación de los promotores de absorción de acuerdo a su polaridad ⁴	18
Tabla VII.	Clasificación de los promotores de absorción de acuerdo a su naturaleza química ^{20,25}	18
Tabla VIII.	Datos de solubilidad (mg/mL) experimental de los principios activos utilizados.....	34
Tabla IX.	Velocidades de permeación ($J = \text{mg} / \text{h} \cdot \text{cm}^2$).....	35
Tabla X.	Factores de promoción.....	37
Tabla XI.	Datos de las estructuras de los promotores.....	39

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

CAF	Cafeína.
IB	Ibuprofeno.
SFU	5-Fluorouracilo.
SR-38	4-Deciloxazolidin-2-ona Dermac SR-38™.
PG	Propilenglicol.
<i>p e.</i>	Por ejemplo.
sol'n	Solución.
SB	Solución buffer.
CM	Componentes de membrana.
Conc.	Concentración.
Abs.	Absorbancia.
T_M	Temperatura de transición vítrea.
Q	Cantidad de fármaco acumulada.
K_p	Constante de permeabilidad.
EF	Factor de promoción.
J	Velocidad de permeación.
J_p	Velocidad de permeación con agente promotor.
J_{sp}	Velocidad de permeación sin agente promotor.
<i>o/w</i>	Aceite/agua (oil/water).
DSC	Calorimetría de barrido diferencial.
ΔH_f	Calor de formación.
μ	Momento dipolar.
S	Área.

1. INTRODUCCIÓN.

Indudablemente en el ámbito de la dosificación de medicamentos la vía de administración oral⁸ ha sido altamente empleada debido a ciertas ventajas, tales como: fácil administración, manejo sencillo, fácil formulación, aseguramiento de dosis exactas, entre otras; sin embargo, existen fuertes inconvenientes que provocan la necesidad de buscar otras formas de administrar fármacos.

Actualmente, una de las rutas de administración alterna a la vía oral convencional está constituida por la mucosa bucal,^{15,16,41,52,53} debido a las ventajas que esta última tiene sobre la primera, entre las que se encuentran las siguientes⁵⁴:

- * Evita la eliminación del fármaco por degradación gastrointestinal
- * Elude el efecto del primer paso hepátogastrointestinal^{18,10,16,31,40,53}
- * Permite alcanzar un efecto terapéutico en la administración de pequeñas cantidades de fármaco⁵³
- * El sitio de aplicación del fármaco es accesible

Entre otras ventajas, encontramos que⁵⁴:

- * Posee una permeabilidad superior a la piel, pudiendo modificar ésta propiedad de manera local.
- * Su actividad enzimática es inferior a la de otras mucosas
- * Probabilidad de irritación menor que en otras mucosas
- * La manera de aplicarse medicamentos ha tenido buena aceptación por parte del paciente.

Para que queden más claras las ventajas de esta vía de administración como vía alterna en la dosificación de ciertos fármacos, cabe mencionar algunos casos en los que se han empleado fármacos y los resultados han sido favorables: la nitroglicerina ofrece un efecto terapéutico rápido y similar al

administrarse tanto por vía bucal como por vía sublingual (mucosa no queratinizada); por otra parte la biodisponibilidad de la morfina es de 40 a 50% mejor por vía bucal que por vía intramuscular³¹.

Algunos de los fármacos que se han administrado por la mucosa bucal son^{16,52}: nitratos orgánicos, esteroides, analgésicos opiáceos (morfina, petidina), bloqueadores del canal de calcio (nifedipina, verapamil) y proteínas y peptidos¹² (oxitocina, insulina, tiotropina).

Para comprender el paso de fármacos a través de ésta mucosa, resulta importante conocer las propiedades fisicoquímicas de la molécula (estructura, pKa, punto de fusión, solubilidad, etc.), las características histológicas y fisiológicas del tejido y las condiciones en las que se lleva a cabo la permeación (tiempo de contacto del fármaco sobre la mucosa, concentración inicial del fármaco, características del vehículo, uso de agentes promotores, etc.)⁴²

Recientemente con la vía de administración transmucosal se han realizado permeaciones de fármacos en perros^{52,53}, conejos^{9,10,15,16}, monos¹⁴ y cerdos^{12,10,14}. Estas dos últimas especies animales poseen propiedades de permeabilidad en la mucosa oral semejantes a las de la mucosa humana. Las características histológicas de la mucosa humana con la del cerdo reportan semejanzas, sobre todo en la composición, el grosor y la constante de permeabilidad^{14,44}.

El presente trabajo tiene por objeto estudiar la absorción de tres fármacos con diferentes características de lipofilia (cafeína, ibuprofeno y 5-fluorouracilo) a través de mucosa oral de cerdo no queratinizada, evaluando el efecto de dos promotores de absorción (Azona[®] y 4-deciloazolidin-2-ona) sobre las cinéticas de permeación.

2. MUCOSA ORAL.

En la cavidad oral se encuentra la mucosa oral, en éste sitio se han utilizado dos vías para la administración de fármacos: la oral, propiamente dicha y la transmucosal; por ello, resulta necesario explicar la anatomía y fisiología de dicha cavidad.

La cavidad oral, con un área de 200 cm² aproximadamente, se divide en 2 regiones^{40,52} (Fig. 1):

1. Vestíbulo exterior oral, el cual incluye a los labios y las mejillas.
2. Vestíbulo interior oral, llamado también cavidad oral, el cual se encuentra delimitado por los arcos maxilar y mandibular.

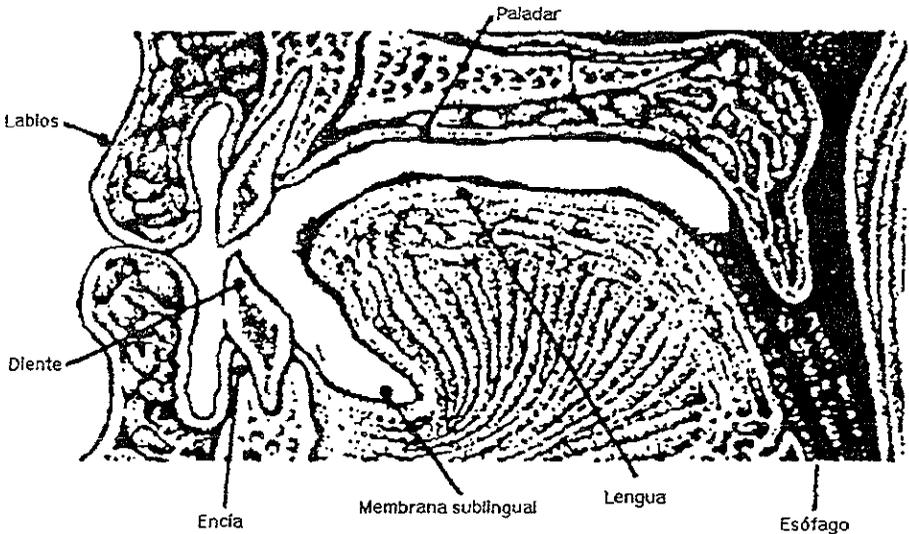


Fig. 1. Las regiones de la cavidad oral⁵².

2.1. Fisiología y morfología de la mucosa bucal.

La mucosa oral posee varias funciones importantes, como⁵²:

- a) Barrera de protección, de infecciones y del paso de sustancias exógenas en el proceso de masticación.

- b) Soporte mecánico, por la lamina propia que actúa como soporte de vasos sanguíneos y nervios.
- c) Sensibilidad, responde al dolor, tacto y temperatura, independientemente del sentido del gusto.
- d) Elasticidad, permite la distensión del tejido.
- e) Termorregulación, algunos animales usan la mucosa oral como termorreguladora, p.e. el perro.

El tejido epitelial de ésta cavidad, el cual juega un papel muy importante en la protección de infecciones, se encuentra clasificado en regiones, de acuerdo a las características:

- a) físicas, histológicas, químicas.
- b) de funcionalidad.

En la literatura se ha dividido a la cavidad oral, en las siguientes regiones^{44,52}(Fig. 2):

1. Mucosa masticatoria. Tejido colágeno conectivo resultado de una cornificación o queratinización, semejante a la epidermis de la piel por su patrón de maduración. Comprende la encía y el paladar, representando aproximadamente el 25% de la superficie total de la cavidad oral.

2. Mucosa especializada. Esta variación puede decirse que es mixta, ya que presenta características de la mucosa masticatoria y de la mucosa de recubrimiento. Se encuentra en el dorso de la lengua y consta de una superficie con regiones queratinizadas y regiones no queratinizadas. Forma parte del 15% de la superficie total.

3. Mucosa de recubrimiento. Es un epitelio escamoso estratificado; abarca las regiones faltantes; proporciona elasticidad y flexibilidad, por lo que es una superficie deformable y funcional para los movimientos de masticación. En éste tejido no se llevan a cabo fenómenos de cornificación, por tanto es un epitelio no queratinizado.

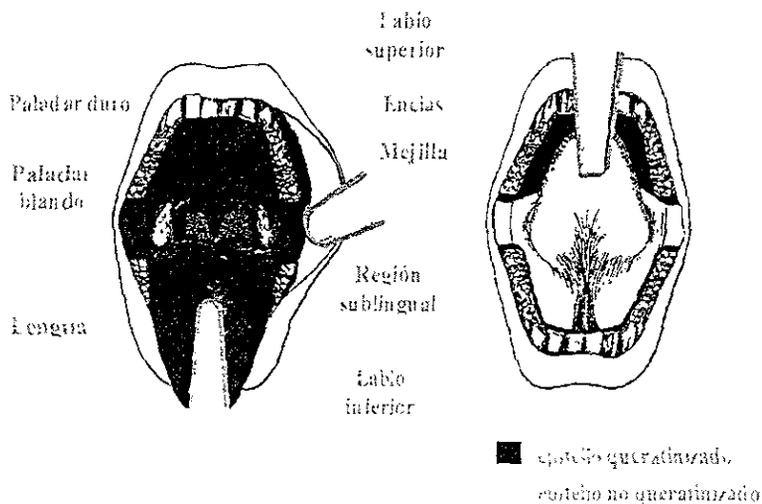


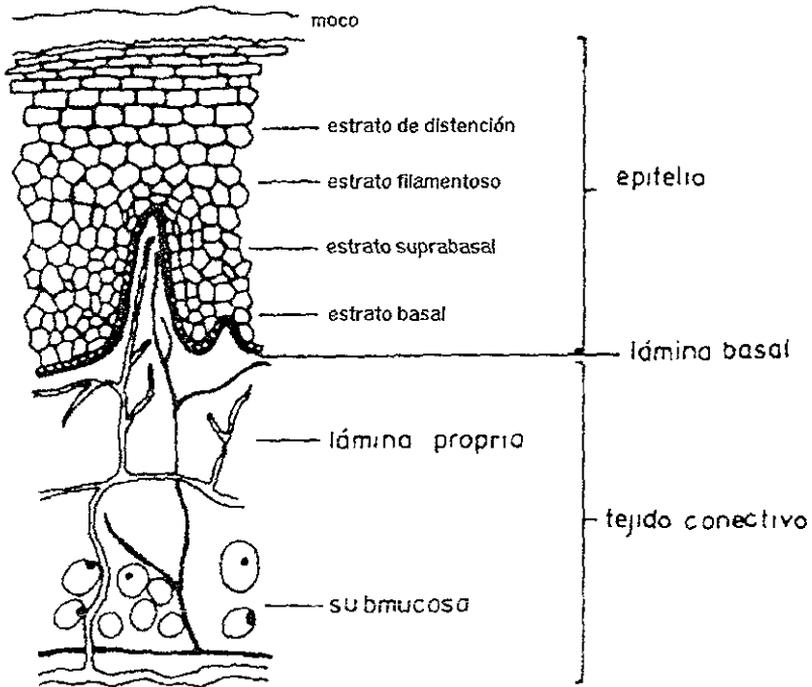
Fig. 2. Organización de la mucosa oral^{52,57}.

Las regiones de la boca han sido caracterizadas según sus diferencias (Tabla I), entre ellas podemos mencionar el grosor, la polaridad y el proceso de queratinización. Es por ello que en el caso de la permeación de fármacos resulta importante conocer la presencia o ausencia de depósitos de queratina, ya que ésta actúa como barrera para dicho fenómeno, las características polares, las cuales proporcionan facilidad de paso sólo para ciertas sustancias y sobre todo el grosor del tejido.

Por otra parte la boca se encuentra cubierta por membrana mucosal (mucosa) con dos componentes: un epitelio escamoso estratificado que es la superficie tersa (el cual consta de 4 diferentes estratos), y debajo, una capa reticular de tejido conectivo llamada *lámina propia*, la cual muchas veces tiene acumulación de células linfoides, actúa como soporte mecánico y (en algunas ocasiones) contiene vasos sanguíneos y nervios¹². En algunas regiones, como en el paladar blando y en las mejillas, existe una capa profunda de tejido conectivo, denominada *submucosa*. La submucosa de la cavidad oral contiene células adiposas y la porción secretora de las glándulas^{12,51,52} (Fig. 3).

Tabla I. Diferencias entre las regiones de la boca⁵².

MUCOSA	LOCALIZACIÓN.	GROSOR (μM)	QUERATINIZACIÓN	POLARIDAD
Bucal	mejilla	500-600	no	sí
	labios		no	sí
Sublingual	frenillo	100-200	no	sí
	piso de la boca		no	sí
Gingival	encia	200	sí	no
Palatal	raíz de la boca	250	sí	no

Fig. 3. La mucosa de la cavidad oral (corte transversal del tejido)⁵²

Las diferentes regiones del epitelio oral son resultado del proceso de diferenciación de las células epiteliales. Generalmente se representan por procesos de queratinización y no queratinización. La diferenciación del epitelio queratinizado da lugar al estrato córneo. Las células cornificadas, poseen una forma estructural plana y hexagonal; en el interior de estas células se condensan filamentos de citoqueratina y alrededor se localiza una matriz lipídica, dicha capa proporciona propiedades de resistencia a la difusividad (permeabilidad) del tejido respecto a diversas sustancias.

Las células de la capa basal, son de forma grande y aplastada, conteniendo cantidades considerables de lípidos y filamentos proteicos en el citoplasma (citoqueratina). Una porción de la cantidad de lípidos de la célula es convertida en gránulos lamelares (capa celular espinosa).

En el epitelio oral queratinizado, cerca de 50% del espacio intercelular está ocupado por desmosomas y la región interdesmosomal frecuentemente se encuentra dilatada. El epitelio no queratinizado, se encuentra en superficies de bajo stress mecánico, tales como: piso de la boca, mejillas, vestíbulo, paladar blando y superficie ventral de la lengua. Éste epitelio carece de estrato córneo y estrato granuloso. Sobre el estrato germinativo y espinoso, se encuentran capas deformadas de células con núcleos aplastados, los cuales son removidos fácilmente. El alto contenido de glucógeno es una característica más de dicho epitelio⁵¹. Los gránulos lamelares en el tejido no queratinizado migran hacia la superficie del tejido (zona apical), aquí éstos gránulos son responsables de la formación de la barrera de permeabilidad de la superficie del estrato escamoso (Fig. 4).

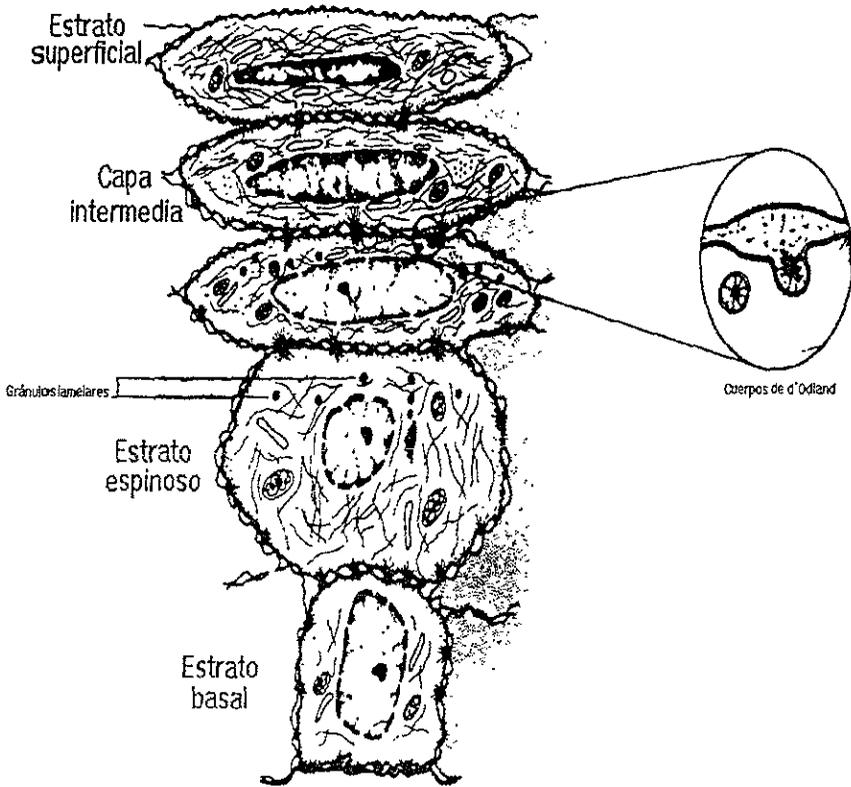


Fig. 4 Representación celular de los estratos del epitelio no queratinizado con organelos^{44,54}.

2.2 Composición química de la mucosa bucal.

Para entender las funciones de la mucosa oral, es necesario conocer la composición química de ésta. Dada la estructura de bicapa lipídica de las membranas celulares, la mucosa oral está conformada por una gran variedad de lípidos y de proteínas. En la Tabla II se muestra la composición lipídica de la mucosa bucal de cerdo (región no queratinizada).

Tabla II. Lípidos contenidos en la mucosa bucal de cerdo.

^{12,49} mucosa bucal porcina.⁴⁴ barrera de permeación de la mucosa bucal.

LÍPIDO	%(P/P)
Esfingomielinea	9.6 ± 0.38 ⁴⁹
Fosfatidilcolina	14.0 ± 0.80 ⁴⁹
Fosfatidilserina	2.6 ± 0.49 ⁴⁹
Fosfatidilinositol	1.6 ± 0.19 ⁴⁹
Fosfatidiletanolamina	14.9 ± 0.57 ⁴⁹
Fosfolípidos totales	42.7 ⁴⁹ ; 38.2 ¹² ; 34.8 ⁴⁴
Sulfato de colesterol	8.8 ± 0.35 ⁴⁹ ; 7.8 ¹² ; 0.9 ⁴⁴
Acilceramida	0 ¹² ; 0 ⁴⁴
Glicosilceramida	18.4 ± 0.88 ⁴⁹ ; 19.0 ⁴⁴
Glucosilceramida	0 ⁴⁹
Acilglucosilceramida	0 ⁴⁹ ; 0 ⁴⁴
Acilglicosilceramida	0 ¹²
Glicosilceramidas totales	18.4 ⁴⁹ ; 16.5 ¹²
Ceramidas	0.9 ⁴⁹ ; 0.8 ¹²
Ceramidas 2-6	8.3 ⁴⁴
Colesterol	15.1 ± 0.59 ⁴⁹ ; 13.6 ¹² ; 16.6 ⁴⁴
Acidos grasos	1.8 ± 0.11 ⁴⁹ ; 1.6 ¹² ; 11.0 ⁴⁴
Esteres de colesterol	6.6 ± 0.71 ⁴⁹ ; 5.9 ¹² ; 3.6 ⁴⁴
Triglicéridos	17.6 ± 0.87 ⁴⁹ ; 15.7 ¹²
Hidrocarburos	1.0 ± 0.18 ⁴⁹
Lípidos no polares totales	23.5 ⁴⁹
Lípidos totales	94.3 ⁴⁹

2.3 Semejanzas de la mucosa bucal humana con la de animales de laboratorio.

La mucosa oral humana posee una área no queratinizada, la cual es más permeable que la región queratinizada de la piel⁴⁴. Para obtener datos correlacionables entre las experimentaciones de permeación de la mucosa bucal en animales de laboratorio con la permeación que pudiese ocurrir en la mucosa bucal humana, es necesario utilizar animales de laboratorio que posean grandes semejanzas estructurales y de permeabilidad con la mucosa bucal humana. Así por ejemplo, se considera a la mucosa oral de la rata como un tejido muy grueso y de capa superficial queratinizada⁴⁴; en el caso del hámster se tiene la desventaja de que el tejido mucosal está diseñado para almacenar comida⁴⁴ y posee diferencias estructurales para dicha función, como por ejemplo el tejido es delgado y no presenta flujo de saliva, siendo así un sistema estático. Por otra parte la mucosa de recubrimiento del conejo presenta cierta semejanza al tejido humano y es ampliamente utilizado para estudios experimentales debido a su semejanza morfológica⁴⁴, sin embargo es difícilmente accesible y el área no queratinizada es sumamente pequeña, en el epitelio oral de conejo, se ha observado un grado considerable de paraqueratinización, lo cual puede originar la poca confiabilidad al extrapolar los resultados con la permeabilidad del tejido oral humano¹⁰. También se han utilizado animales grandes de laboratorio para los estudios de permeación de fármacos; dichos animales como: monos^{14,44}, perros^{44,52,53} y cerdos^{10,14,44} resultan apropiados para los diseños experimentales, no obstante, existe el inconveniente del costo y la facilidad de obtención.

En la Tabla III. encontramos los datos experimentales de la constante de permeabilidad (Kp) y del grosor de la mucosa bucal de cuatro especies animales, incluyendo las del humano; como puede observarse, la mucosa de éste último posee ciertas semejanzas con la del cerdo.

Tabla III. Diferencias en la mucosa bucal de diversas especies de animales⁴⁴.

ESPECIE	Kp (x 10 ⁻⁷ cm/min)	GROSOR (μM)
Humano	579	580
Cerdo	634	772
Mono	1025	271
Perro	1045	126

Considerando que la mucosa oral humana es difícil de obtener, para fines de experimentación se ha propuesto el uso de cultivos celulares del tejido oral humano^{28,38}, no obstante, las experiencias realizadas con tejido animal son las más comunes.

El tejido bucal de perro es muy semejante al humano especialmente con respecto a la estructura y flujo sanguíneo⁵⁶. Los perros sabueso han sido utilizados en estudios *in vivo* para la permeación de diversos fármacos, entre ellos péptidos,⁴⁴ encontrando buena correlación con los resultados en tejido humano. Igualmente el tejido bucal porcino es muy semejante al humano, en cuanto al grosor y permeabilidad (Tabla IV) y la ventaja que éste posee ante los demás tejidos animales es su disponibilidad.

Tabla IV. Comparación de grosor⁵⁶ (μm) y permeabilidad⁴⁴ ($\text{Kp} \times 10^{-7} \text{ cm/min}$) de diferentes regiones del epitelio oral y de la piel de cerdo y humana.

MUCOSA	GROSOR		PERMEABILIDAD	
	HUMANA	PORCINA	HUMANA	PORCINA
bucal	500-600	772	579	634
sublingual	100-200	192	973	808
gingival	200	208	---	---
palatal	250	---	450	364
piel	2300	---	44	62

2.4 Diferencias de la mucosa bucal con otras mucosas.

A pesar de que tejidos como el nasal, vaginal, gastrointestinal, etc. se agrupan bajo el común denominador de "mucosas", éstos poseen propiedades histológicas y funcionales particulares, los cuales les confieren características de permeabilidad diferentes. A continuación se enuncian brevemente algunas propiedades de éstas mucosas.

La superficie de la mucosa nasal humana⁸ está cubierta por un epitelio columnar ciliado; entre éste epitelio se encuentran células caliciformes, las cuales tienen la función de sintetizar secreciones nasales (pH 7.4) y en su superficie contienen cientos de microvellosidades. En los

espacios intercelulares se encuentran sustancias glucoproteicas y en la membrana basal, fibras reticulares (paralelas y transversas) y tejido conectivo.

La mucosa rectal humana⁸ está constituida de epitelio, lámina propia y una capa doble de músculo mucoso. La superficie del epitelio está formada por células columnares interrumpidas por regiones depresivas, en las primeras se encuentran los nódulos linfoides y en las segundas, se localizan las células caliciformes. Su lámina propia consta de dos capas: una capa de colágeno sin células y una capa de tejido conectivo, en el cual se encuentran vasos sanguíneos y células responsables del proceso de inflamación (macrófagos, eosinófilos y linfocitos). El músculo mucoso contiene miocitos tersos y grandes vasos sanguíneos.

En cuanto a la mucosa vaginal humana⁸, se sabe que es un tejido extremadamente elástico, formado de 5 estructuras: epitelio, lámina propia, túnica propia, músculo mucoso y una capa exterior fibrosa. Éste tejido puede subdividirse en capa superficial, intermedia y basal; la primera capa sufre continua descamación y está formada de epitelio escamoso estratificado con varios grados de cornificación; la capa intermedia consta de 10 a 30 capas de células polihédricas y la capa basal se forma por epitelio cuboidal o columnar. Así mismo, la lámina propia del tejido vaginal es un tejido conectivo que contiene pequeños vasos sanguíneos y células responsables del proceso de inflamación. La túnica propia contiene canales vasculares más grandes y tejido elástico. El músculo mucoso está formado por una capa muscular y longitudinal de músculo y la capa exterior fibrosa está constituida por un tejido conectivo elástico que proporciona soporte al órgano. El incremento de estrógenos en la fase preovulatoria y ovulatoria causa un incremento en la cornificación del epitelio superficial.

Por otra parte la mucosa gastrointestinal⁵⁸, está compuesta de tres capas principalmente, submucosa (tejido conectivo areolar) con características elásticas, capa muscular (músculo liso dispuesto en dos secciones distintas) y capa serosa (peritoneo visceral) es la capa más externa. En el estómago la capa muscular se dispone de forma longitudinal, circular y oblicua y el epitelio es columnar simple. El intestino delgado posee pliegues circulares de submucosa, los cuales pueden extenderse dos terceras partes o más, vellosidades y microvellosidades, su epitelio es columnar o cuboideo simple con células caliciformes (secretoras de moco). El intestino grueso no tiene vellosidades y sí contiene muchas células caliciformes; es el tejido que produce mayor cantidad de moco.

De acuerdo a las funciones que cada tejido mucosal desempeña, presentan algunas características estructurales específicas; así por ejemplo, dado que la mucosa nasal humedece y filtra el aire respirado, presenta cilios los cuales sirven en el proceso de filtración y retienen polvo y microorganismos del aire; la mucosa gastrointestinal presenta microvellosidades, las cuales poseen la función de absorción de nutrientes. También podemos observar que el tejido mucosal oral tiene mayor grosor en comparación con los otros tejidos mucosales. En la Tabla V se presentan las características de las diferentes mucosas, así como el grosor de cada uno de éstos epitelios.

Tabla V. Datos de grosor (μm)⁸ y tipos de epitelio mucosal.

MUCOSA	GROSOR (μm)	TIPO DE EPITELIO
oral	594.0	escamoso estratificado no queratinizado y queratinizado
nasal	53.5	escamoso columnar ciliado pseudoestratificado con células caliciformes
rectal	175.3	columnar simple con células caliciformes
vaginal	165.1	escamoso estratificado queratinizado
gastrointestinal	----	columnar o cubideo simple con o sin células caliciformes

2.5 Localización de la barrera de permeación en la mucosa bucal.

Una definición de lo que se conoce como barrera de permeación, es el impedimento o la resistencia que se opone a la transferencia de sustancias exógenas a través de un tejido⁴³.

La barrera de permeación de la mucosa oral, puede dividirse en dos tipos:

1. Física.
2. Bioquímica o metabólica.

La barrera física de permeación está en función de las propiedades fisicoquímicas de la membrana celular, específicamente de las capas individuales de la mucosa⁴³:

a) Capa de moco, la cual posee un grosor de $600 \mu\text{m}$ ⁵², llega a ser una barrera en la permeación de fármacos por la presencia de saliva (1 L/día)⁵² y mucina salivaria (glicoproteína).

b) Región queratinizada, limita el paso de sustancias exógenas debido a los componentes del estrato córneo (lípidos) y al grosor de éste.

c) El epitelio, según Squier^{43,44} quien aplicó peroxidasa de rábano (enzima de 40 000 D, y 5-6 nm), como proteína marcadora de la densidad electrónica, tópica e intradermicamente, encontró que en la aplicación tópica el marcador no penetró más allá de la tercer capa de células; mientras que en la aplicación subepitelial penetró a través del tejido conectivo, la membrana basal y se encontró el marcador en el 75% aprox. de los espacios intercelulares del epitelio estratificado.

Harvey y Squier⁴⁴, visualizaron la barrera de permeabilidad en la mejilla del hámster con peroxidasa de rábano en la superficie de las capas epiteliales⁴³. La mucosa oral muestra que la barrera de permeabilidad con el lantano y peroxidasa de rábano se localiza arriba del 25-30% de las capas epiteliales⁴⁴.

En la mucosa queratinizada, el límite de penetración del marcador fue la capa granular y queratinizada del epitelio⁴⁴.

La presencia de gránulos lamelares (cuerpos de d'Odland o *membrane-coating granules*) en el epitelio escamoso estratificado es un pre-requisito para la formación de la barrera de permeabilidad.

d) Lámina basal, primordialmente el impedimento al paso de sustancias se debe al grosor del estrato (1 μm)⁴³; sin embargo éste obstáculo posee baja resistencia ante: proteínas, endotoxinas, complejos inmunes y fármacos como clorhexidina y agentes β -bloqueadores.

e) Lamina propria, por el contenido de colágeno y fibras elásticas, ésta estructura es considerada permeable a moléculas grandes y componentes hidrofílicos.

La barrera de permeación metabólica se enfoca principalmente en la presencia de proteínas y carbohidratos en las estructuras de la mucosa bucal, tales como: enzimas (α -amilasa), ptyalina, glucógeno y almidón (con pocos residuos de sacáridos) y en la saliva⁵²: tiocianato, inmunoglobulinas (proteínas) y bacterias.

Otra barrera de permeación bioquímica de la mucosa oral, es la presencia de complejos inmunes encontrados en el epitelio. Recientemente se ha propuesto que la región basal del epitelio bucal porcino puede representar un sitio de barrera para sustancias pequeñas como agentes β -bloqueadores⁴⁴.

2.6 Formación de la barrera de permeación en la mucosa bucal.

Las células de la mucosa al salir de la capa basal e iniciar su diferenciación tienden a acumular lípidos y proteínas en el citoplasma. Una proporción de esos lípidos acumulados es empaquetada en pequeños organelos esféricos de aproximadamente 0.2 μm de diámetro,⁵⁷ conocidos como gránulos lamelares,^{44,54,57} los cuales probablemente son formados en el complejo de Golgi; éstos organelos dan la apariencia espinosa a la capa celular siguiente. Mediante microscopía electrónica se ha visto que los gránulos se encuentran organizados en forma de pilas y discos de densidad electrónica amorfa. Se cree que cada uno de éstos discos representa a un liposoma aplastado.

En el proceso de diferenciación de éste tejido no queratinizado, los gránulos lamelares migran a la parte profunda de la capa superficial, aquí la membrana granular se fusiona con la membrana celular, convirtiéndose en parte de ésta última y el contenido de los gránulos es depositado en el espacio intercelular. El contenido lipídico descargado está constituido principalmente de fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos, ésteres de colesterol, ceramidas y ésteres de glucolípidos⁴⁴.

Finalmente se ha mencionado que la diferenciación celular en tejidos no queratinizados involucra cambios drásticos en la forma, contenido y composición lipídica (Fig. 4); y que esto induce a encontrar la barrera de permeabilidad a un cuarto o un tercio de la superficie del tejido.⁵⁷

3. PROMOTORES DE ABSORCIÓN

3.1 Definición de promotor de absorción.

Un promotor de absorción o permeación es aquella sustancia que provoca cierto incremento en la permeación membranal de una sustancia.²⁰ Un importante punto es la consideración de que estas sustancias deben disminuir de manera reversible la barrera de permeabilidad.

La efectividad de las sustancias promotoras depende tanto de sus propiedades fisicoquímicas como de las del fármaco, del sitio de administración (grosor de la membrana, morfología celular, actividad enzimática, composición lipídica y proteínica, factores estructurales y funcionales), de la naturaleza del vehículo en el que se administre el fármaco-promotor, etc.

Se considera que un promotor de absorción, debe poseer características ideales, tales como^{20,25}:

- * No tóxico.
- * No irritante.
- * No provocar alergias.
- * De acción rápida y reversible.
- * Compatible con los componentes de la formulación.
- * Tener absorción sistémica nula.
- * Farmacológicamente inerte
- * Químicamente estable e inerte.
- * Inoloro e incoloro.

3.2. Mecanismos de acción de los promotores de absorción.

Existen cinco mecanismos de acción de los promotores de permeación²⁰:

1. Cambio reológico del moco. Diferentes reportes indican un decremento en el pasaje inicial de agua hacia el epitelio bucal, debido a la presencia de saliva.

2. Incremento de la fluidización de la bicapa lipídica de la membrana. Como el paso intercelular es la ruta más probable para la absorción de fármacos, la disrupción de los lípidos intercelulares provoca un incremento en la permeabilidad. Este aumento en la fluidez de los lípidos se asocia frecuentemente a una disminución de su temperatura de transición vítrea (T_M).

3. Alteración de los componentes involucrados en la formación de enlaces intercelulares. Esto es particularmente importante en el caso de la mucosa intestinal en donde las uniones "tight" constituyen la barrera de permeación. La mucosa oral no tiene éste tipo de conexiones, sin embargo, los desmosomas ocupan un alto porcentaje del espacio intercelular, por lo que la disrupción de éstas estructuras podría aumentar la permeabilidad.

4. Inhibición de la barrera enzimática. En ésta categoría están representados principalmente los promotores que actúan como inhibidores proteolíticos para las endo y exo-peptidasas, esto hace posible que el fármaco penetre debido a una actividad proteolítica deficiente.

5. Incremento de la actividad termodinámica del fármaco, la cual puede ser afectada por la composición del vehículo en el que se encuentra el fármaco y también por la formación de un par ión entre el promotor y el fármaco.

Además de los mecanismos de acción de los agentes promotores, resulta importante mencionar las posibles rutas de acceso celular de las sustancias exógenas (Fig. 5). En la literatura se mencionan dos:

1. La ruta intercelular, es el camino que siguen las sustancias exógenas entre las células.
2. La ruta transcelular es el camino a través de las células de la mucosa.

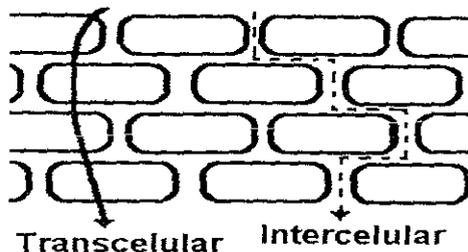


Fig. 5. Rutas de penetración de sustancias exógenas⁴.

3.3 Clasificación de los promotores de absorción.

Los principales grupos de promotores de permeación se han clasificado de acuerdo a su polaridad⁴ y a su naturaleza química^{20,25}, la Tabla VI muestra la clasificación por grado de polaridad.

Tabla VI. Clasificación de los promotores de absorción de acuerdo a su polaridad⁴.

POLARIDAD	EJEMPLOS DE PROMOTORES DE ABSORCIÓN
No polar	Azona [®] , ácido oléico.
Baja polaridad	Dimetilsulfóxido, dimetilformamida, pirrolidonas.
Polaridad media	Decilmetilsulfóxido.
Alta polaridad	Propilenglicol.

Por otra parte, la clasificación de los promotores de absorción de acuerdo a su naturaleza química se presenta en la Tabla VII.

Tabla VII. Clasificación de los promotores de absorción de acuerdo a su naturaleza química^{20,25}.

NAT. QUÍMICA	EJEMPLOS DE PROMOTORES DE ABSORCIÓN
Solventes	Agua, alcoholes, alquilmetilsulfóxidos, pirrolidonas, Azona [®] , propilenglicol.
Surfactantes	Sales biliares, ácidos grasos, alquilsulfatos (aniónicos), cetilmetil bromuro de amonio (catiónicos), polisorbatos (no iónicos).
Otros	Urea, terpenos y aceites esenciales, N,N-dimetilm-toluamida, ciclodextrinas.

3.4. Promotores de absorción utilizados en el estudio.

3.4.1 Azona® (laurocapram).

El laurocapram o también nombrado como 1- dodecilhexahidro-2H-azepin-2-ona, 1- dodecilazacicloheptan-2-ona o N-dodecil-ε-caprolactam es un líquido incoloro derivado del caprolactam, de p.e. 160° y p.f. -7°, y densidad de 0.91. Es insoluble en agua y muy soluble en solventes orgánicos⁶².

Esta sustancia fue desarrollada específicamente aumentar la permeabilidad de la piel y con ello la absorción de fármacos. Su mecanismo de acción no está ligado a la reducción de la resistencia eléctrica del tejido, sino a la formación de regiones fluidas, debido a la inserción de moléculas de Azona® en los lípidos intercelulares. Se ha propuesto que la Azona® se inserta entre dos moléculas de lípidos, formando puentes de hidrógeno con una de las moléculas y dejando la otra libre, lo cual da origen a una región fluida que favorece el paso de fármacos. Estudios de microscopía electrónica de barrido demuestran un aumento en la fluidez de las células y un incremento en los espacios intercelulares del estrato corneo cuando el tejido es tratado con éste compuesto.

Con respecto a su toxicidad, se menciona que derivados de la Azona® producen daño a cultivos de células epiteliales humanas cuando su molécula posee cadenas de 2 a 8 carbonos y que al aumentar su tamaño (14 carbonos) decrece su toxicidad. En la figura 6 observamos la estructura molecular de ésta sustancia, en su forma lineal y plegada.



Fig. 6. Estructura molecular de la Azona®.

3.4.2 Dermac SR-38 (4-deciloazolidin-2-ona)

El presente trabajo pretende comparar el efecto de promoción de absorción de un agente conocido, como lo es la Azona[®] con un agente promotor nuevo, sintetizado por Pharmetrix División de TCPI, por lo cual, a continuación se describen las propiedades fisicoquímicas³⁹ y funcionales de ésta molécula:

Dermac SR-38 es un cristal sólido inoloro y blanco, con p.f. de 32-33°C, de propiedades emolientes sobre la piel, altamente estable en solución, muy soluble en vehículos lipofílicos (aceite mineral, aceite de maíz, de algodón, aceite sésamo, ésteres de ácidos grasos, entre otros), moderadamente soluble en vehículos polares (polietilenglicol 400, etanol, etilacetato, acetona y glicoles) pero insoluble en agua; reduce la tensión superficial del agua y facilita el mojado y extensión de formulaciones de base acuosa sobre la piel, es compatible con aceites esenciales (terpenos y fragancias) Posee un valor de la escala de HLB de 10, lo que ofrece gran ventaja en su utilización para preparar emulsiones o/w. Su estructura es semejante a algunos surfactantes no iónicos, consta de una cabeza polar pentacíclica y una cadena alquil lipofílica de 10 carbonos (fig. 7).

Dermac SR-38 restablece las propiedades de la barrera de permeación de la piel, después de que en la piel se sufrió la remoción de los lípidos por uso de detergentes, agentes limpiadores o por abrasión mecánica; éstos atributos favorecen el uso de SR-38 en productos para el cuidado de la piel, como un promotor de las propiedades de rejuvenecimiento. Cuando es formulado con perfumes, SR-38 puede promover la absorción local en la piel.

Dermac SR-38 tiene un gran PM y mayor lipofílicidad comparado con muchos de los promotores de tipo solvente (etanol, propilenglicol) y es menos efectiva su absorción hacia las capas profundas de la piel.

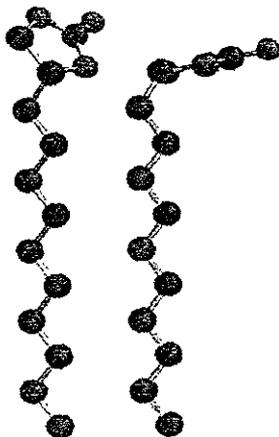


Fig. 7. Estructura molecular del SR-38.

3.4.3 Propilenglicol¹

Debido a que el propilenglicol es ampliamente utilizado en la Industria Farmacéutica y Cosmética, principalmente en formulaciones dermatológicas, se han examinado las interacciones de ésta sustancia con piel y tejido epitelial mediante DSC y en estudios de permeación. Se ha encontrado que el propilenglicol es un agente promotor de absorción y puede actuar sinergizando la acción si se aplica conjuntamente con otros promotores (Azona[®] y ácido oléico)⁴⁵.

Cuando es aplicado individualmente hidrata completamente el tejido, lo cual no incrementa la penetración de fármacos por ésta acción, sin embargo podemos recordar que cantidades excesivas de agua presentan funciones de promoción de permeación. Si se usa propilenglicol combinado con otro agente promotor (Azona[®]), el propilenglicol entra en el tejido y promueve la difusión intercelular del fármaco, más que el agua. Similarmente al aumentar el poder de solventes polares, el propilenglicol actúa como agente de penetración, promoviendo la partición del fármaco en el interior del tejido epitelial, provocando altos flujos.

En la fig. 8 se representan las estructuras de los lípidos de la membrana celular. En el primer caso cuando se hidrata el tejido, en donde el empaquetamiento de lípidos se pierde y permite la

inserción de cabezas polares en los puentes de hidratación y en el segundo caso, cuando se trata con un agente promotor: Azona[®]; la cual se inserta entre los lípidos previniendo la cristalización de las cadenas.

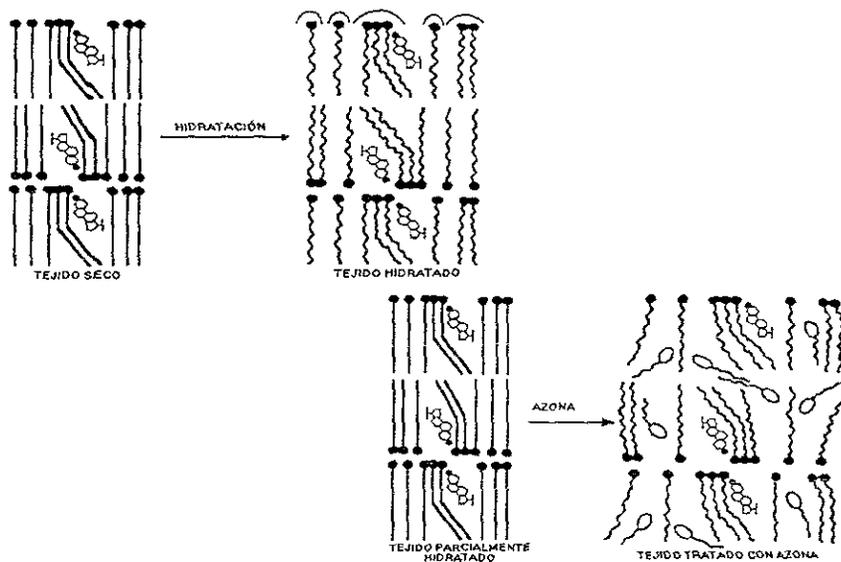


Fig. 8 Estructuras lipídicas de la membrana celular en el tratamiento con agua y Azona[®] 4.

4. FENÓMENO DE PERMEACIÓN.

Debido a que en las ciencias farmacéuticas la difusión libre o transporte pasivo a través de sólidos, líquidos y membranas representa un proceso de considerable importancia, es necesario estudiar este fenómeno para conocer su comportamiento y las condiciones que lo afectan; por tanto en esta tesis los fenómenos arriba citados resultan ser la parte medular del trabajo.

La *difusión* se define como un proceso en el que se realiza la transferencia de masa de moléculas individuales de cierta sustancia, dada por movimientos moleculares aleatorios y se asocia a un gradiente de concentración⁵⁵. Por otra parte la *permeación* es la capacidad de penetración de moléculas individuales a través de cuerpos sólidos (barreras biológicas o artificiales, líquidos o sólidos).

El pasaje de materia a través de un cuerpo, se lleva a cabo por simple difusión molecular y/o mediante el paso de ésta a través de poros y canales^{55,67,68}. Para el primer caso, ha de cumplirse con una premisa, la cual menciona que la molécula a permear debe estar disuelta en la barrera (membrana, líquido o sólido). El segundo caso puede involucrar el pasaje de la sustancia por la afinidad de ésta con el solvente y es influenciado por los tamaños tanto de las moléculas, como de los poros⁵⁵.

4.1 Primera ley de Fick.

El fenómeno de difusión se explica matemáticamente por la primera y segunda ley de Fick^{55,67,68}. En este caso, el flujo de fármaco (J) a través de una membrana ésta definido como:

$$J = \frac{dM}{S * dt} \quad \text{ec. 1}$$

en donde: dM , es la cantidad de materia permeada (g);
 S , es el área empleada de la membrana de difusión (cm²);
 t , es el tiempo (seg)
 y J , es el flujo de permeación (g / cm² * seg).

el flujo de la sustancia de acuerdo a la primera ley de Fick en un estado estacionario (monodimensional) es proporcional al coeficiente de difusión y al gradiente de concentración en la dirección de menor concentración:

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad \text{ec. 2}$$

donde: D , es el coeficiente de difusión (cm^2 / seg),

C , es la concentración (g / cm^3)

x , es la distancia del movimiento perpendicular a la superficie de la membrana (cm)

dC/dx , representa la velocidad de cambio de concentración, con respecto a una distancia x en la membrana

El coeficiente de difusión D , se ve afectado por los factores de temperatura, presión, propiedades del solvente, naturaleza química y concentración de la sustancia a permear; sin embargo ésta denominación como coeficiente se ha modificado a constante, para el diseño de sistemas farmacéuticos; siempre y cuando se maneje éste término a condiciones constantes^{55,70}.

Sí consideramos S , como el área y h al grosor de la membrana, y a la concentración en la membrana del lado donador (C_1) y a la concentración en la membrana del receptor (C_2), podemos escribir la primer ley de Fick, como:

$$J = \frac{dM}{S * dt} = D * \frac{(C_1 - C_2)}{h} \quad \text{ec. 3}$$

en donde $(C_1 - C_2)/h$ se aproxima a dC/dx en el momento en el que la difusión en la membrana llega al equilibrio. Las condiciones para llegar a la ec. 3 son que: el gradiente $(C_1 - C_2)/h$ dentro del dispositivo, debe asumirse como constante para un estado cuasi-estacionario; la cantidad de fármaco en el compartimento donador es mucho mayor a la solubilidad del fármaco; el compartimento receptor se mantiene en condiciones sink; el coeficiente de difusión se mantiene constante y no existe interacción entre el fármaco y la membrana. La ecuación 3, presume que el límite de capas acuosas

(supuestamente denominadas estáticas o sin agitación) en ambos lados de la membrana no afecta significativamente el proceso total de transporte.

Si las concentraciones C_1 y C_2 no se conocen, pueden reemplazarse por el coeficiente de partición multiplicado por la concentración del compartimento donador C_d o del receptor C_r , y por tanto, el coeficiente de partición (K), se calcula, como:

$$K = \frac{C_1}{C_d} = \frac{C_2}{C_r} \quad \text{ec. 4}$$

entonces:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DSK (C_d - C_r)}{h} \quad \text{ec. 5}$$

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

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DSKC_d}{h} = PSC_d \quad \text{ec. 6}$$

donde finalmente P es el coeficiente de permeabilidad,

$$P = \frac{DK}{h} \text{ (cm/seg)} \quad \text{ec. 7}$$

en los casos en los que no es posible calcular D , K o h , se puede obtener P .

El flujo de las sustancias a través de una membrana resulta ser un modelo muy empleado para el estudio de los procesos de difusión, para ello se emplean celdas, denominadas celdas de difusión (Fig. 9). En ellas, se coloca la solución de la sustancia a permear en el compartimento donador y el solvente puro en el receptor; generalmente en éste último compartimento se reemplaza constantemente el total del volumen de solvente, esto con la finalidad de mantenerse en condiciones sink, al asegurar bajas concentraciones en el compartimento.

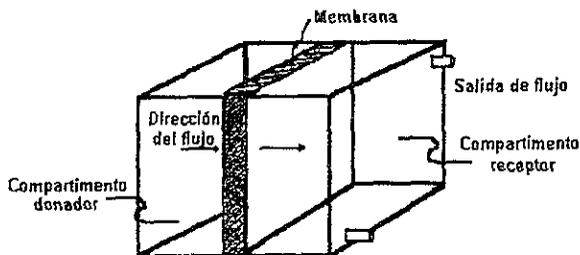


Fig. 9. Celda de difusión⁵⁵.

4.2 Dispositivos de permeación mucosal.

En la literatura se han reportado diversos trabajos experimentales, los cuales que se han empleado para dilucidar la absorción de fármacos a través de la cavidad oral, en estos se emplean dispositivos denominados celdas bucales de perfusión^{22,28,29,41,42,54,59} (Fig. 10) y celdas de difusión^{6,11,13,14,18,19, 21,27,30,31,36,37,45}. El primer sistema permite conocer la absorción del fármaco dentro de la cavidad oral y la aparición de éste en el plasma, este dispositivo es utilizado en estudios *in vivo* y consta de sólo un compartimento (cámara de perfusión), soportado por una estructura flexible de silicón y adherida al tejido mediante cianoacrilato (sustancia bioadhesiva). El segundo sistema: una celda de difusión es otro dispositivo utilizado en evaluaciones *in vitro* del comportamiento de permeabilidad de tejidos biológicos y membranas sintéticas; ésta se caracteriza generalmente, por poseer dos compartimentos (compartimento donador y receptor) en el primero se deposita el principio activo o la sustancia en estudio y en el segundo el medio en el que se pretenda recolectar la fracción de la sustancia difundida a través de la membrana colocada entre éstos compartimentos.

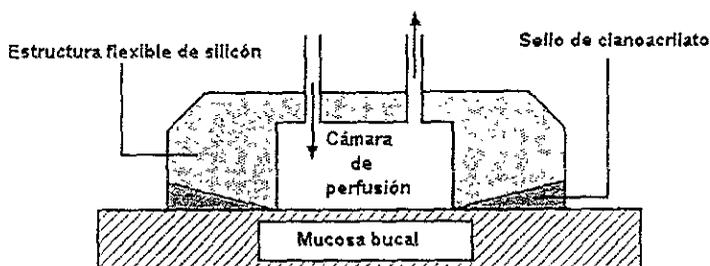


Fig. 10 Celda de perfusión utilizada en estudios *in vivo* sobre mucosa bucal⁵⁴.

Una celda de difusión de construcción simple, es reportada por Aguiar y Weiner⁵⁵ (Fig. 11), en la cual se facilita la limpieza y visibilidad al interior de ésta, debido a que está hecha de vidrio o plástico. También está acondicionada para controlar la temperatura y recolección automática de muestras por varias horas.

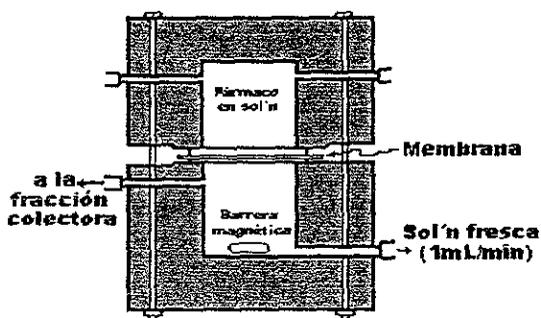


Fig. 11 Celda de difusión de Aguiar y Weiner⁵⁵.

Bíber y Rhodes⁵⁵ construyeron una celda de difusión de tres compartimentos con vidrio plexi (Plexiglas); la que usaron en experiencias con membranas biológicas y sintéticas. El fármaco difunde de los compartimentos donadores a un compartimento receptor central. Los resultados fueron reproducibles y comparados favorablemente con otros estudios. La razón del diseño de los tres compartimentos se basa en la posibilidad de disponer de una gran superficie de exposición y mejorar la sensibilidad analítica.

Wurster y col.⁵⁵ diseñaron una celda de permeabilidad para el estudio de difusión de gases, líquidos y geles a través del estrato córneo (Fig. 12). En las experiencias de estos estudios se mantenía una temperatura constante y las muestras permeadas se recogían a tiempos definidos, para analizarlos posteriormente.

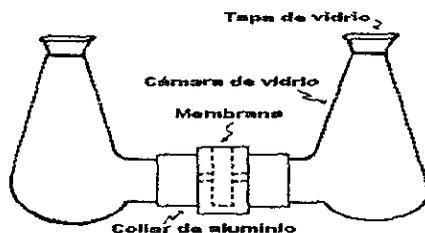


Fig. 12 Celda de difusión de Wurster y col.⁵⁵.

Otros tipos de celdas de difusión que se han presentado en diferentes estudios, son las construidas en forma horizontal^{14,27,30,32,54} (Fig. 13) y vertical⁵⁴ (Fig. 14), éstas se usan en estudios de dinámica de permeabilidad de pequeños fragmentos de tejido⁵⁴ animal aislado.

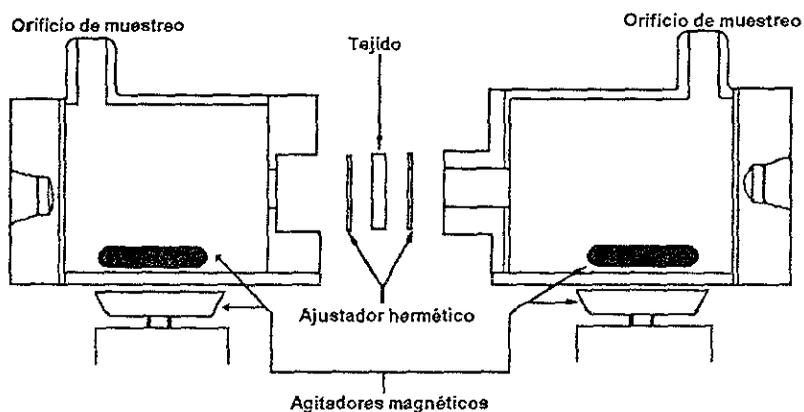


Fig. 13 Celda de difusión horizontal⁵⁴.

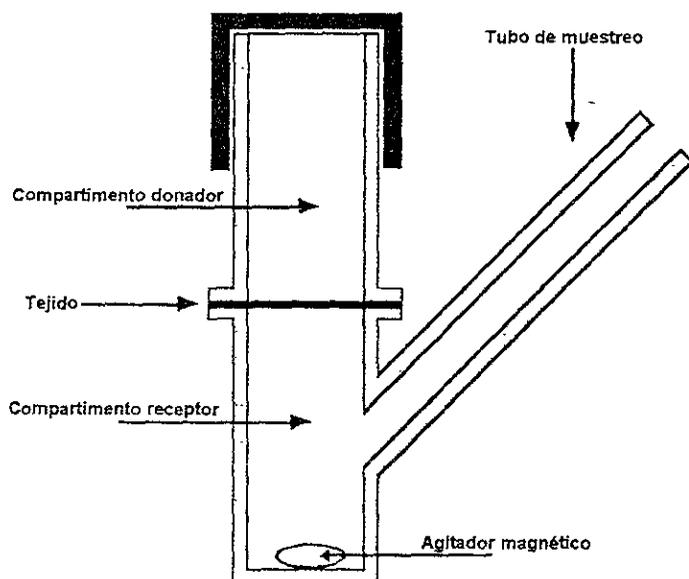


Fig. 14 Celda de difusión vertical⁵⁴.

CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

“El aplicar agentes promotores de absorción sobre tejido mucosal oral no queratinizado, permitirá la disminución de la barrera de permeabilidad de dicha membrana, lo que provocará un aumento en la velocidad de permeación de los principios activos utilizados”.

☆ Caracterizar el comportamiento de permeación de tres fármacos con diferente lipofilia a través de mucosa oral de cerdo, usando dos diferentes agentes promotores de absorción (Azona[®] y Dermac SR-38[™]).

☆ Determinar el efecto de éstos promotores sobre el flujo de los fármacos.

☆ Comparar el flujo de los fármacos, de acuerdo a la aplicación de los agentes promotores.

CAPÍTULO III. PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIALES.

1.1 Material.

- * Tejido mucosal oral porcino.
- * Estuche de disección.
- * Celdas de difusión tipo Franz.
- * Material de vidrio en general.
- * Barras magnéticas.
- * Pipetas pasteur
- * Celdas espectrofotométricas.

1.2 Reactivos.

- * Cloruro de sodio. (J.T. Baker)
- * Fosfato de sodio dibásico. (J.T. Baker)
- * Fosfato de potasio monobásico. (J.T. Baker)
- * Brij 68. (ICI Speciality Chemical)
- * Propilenglicol. (Spectrum Chemical Mfg)
- * Cafeína. (Sigma)
- * Ibuprofeno. (Heim de México S.A.)
- * 5-Fluorouracilo. (Sigma)
- * Azona. (Whitby Research, Inc Richmond U.S.A.)
- * 4-deciloxazolidin-2-ona (Pharmetrix Div. of TCPI)
- * Etanol. (90% Spectrum Chemical Mfg Corp.)
- * SSF (Abbott)

1.3 Equipo.

- * Espectrofotómetro Mod. CARY.
- * Potenciómetro PASCO scientific.
- * Placa de agitación de 15 plazas.
- * Electrodo de pH Pasco scientific 08-92
- * Tarjeta CI-6507 series 6500 pH probe
- * Termostato.

2. METODOLOGÍA.

2.1 Curvas de calibración.

Se realizaron 2 sistemas diferentes para las curvas de calibración. Cada punto de las curvas se realizó por triplicado. Los primeros se prepararon con solución amortiguadora de fosfatos como solvente a los principios activos. El otro sistema utilizado como solvente de los principios activos, fue la solución amortiguadora de fosfatos con componentes celulares de la mucosa oral porcina. Ésta se elaboró adicionando a la solución amortiguadora una mucosa bucal de cerdo completa por cada 2 L de solución. Después de 24 horas de contacto con agitación constante, la solución se centrifugó y filtró.

2.2 Pruebas de solubilidad.

Para determinar experimentalmente la solubilidad de los principios activos en la solución amortiguadora de fosfatos (solución receptora) y en el propilenglicol (vehículo donador), se saturó un volumen conocido de éstos solventes con los principios activos. Después de mantener éstas soluciones a 37°C y agitación constante, durante 24 h, se analizaron espectrofotométricamente, leyendo a las longitudes de onda de máxima absorción correspondientes a cada principio activo. Cada experiencia se realizó por triplicado

2.3 Permeaciones.

La mucosa bucal fue obtenida del cerdo inmediatamente después del sacrificio. El tejido muscular y conectivo se eliminó y la mucosa se conservó en solución salina fisiológica; posteriormente, se colocó el tejido mucosal en las celdas verticales de difusión tipo Franz (Fig. 14), exponiendo un área del tejido de $0.6876 \pm 0.0006 \text{ cm}^2$ el cual se hidrató con solución amortiguadora de fosfatos de pH 7.4 por 30 minutos. Posteriormente se cambiaron las soluciones donadora y receptora por una solución sobresaturada de principio activo en propilenglicol y por solución amortiguadora de fosfatos (pH 7.4), respectivamente. Finalmente se procedió a realizar las cinéticas de permeación por 24 horas muestreando a las 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 24 horas, manteniendo una temperatura de 37°C y agitación constante. Las experiencias se realizaron por sextuplicado. La concentración del fármaco permeado se determinó por espectrofotometría UV.

En el caso de las experiencias con agentes promotores de absorción, después de hidratar el tejido, éste se trató durante una hora con 100 μL de una solución 0.4 M del agente promotor; transcurrido el tiempo se removió la solución con una gasa y se colocó la suspensión del fármaco, iniciando la cinética de permeación.

Al final de la permeación, se enjuagó 3 veces el compartimento donador con 2 mL de etanol al 90% cada ocasión; por otra parte se extrajo el principio activo retenido en el tejido mucosal, exponiéndolo a un volumen de 4 mL de etanol al 90% por 24 h. para posteriormente leer espectrofotométricamente a la longitud de onda de máxima absorción correspondiente a cada principio activo.

CAPÍTULO IV.

RESULTADOS

1. Curvas de calibración.

1.1 Cafeína

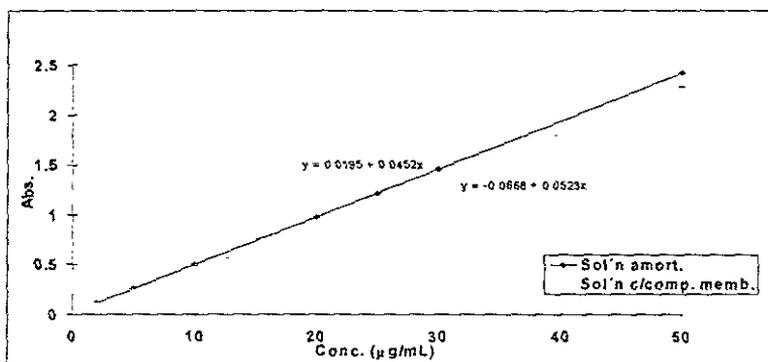


Fig. 15 Curvas de calibración de Cafeína.

La Fig. 15 muestra las curvas de calibración preparadas con sol'n amortiguadora y con solución con componentes membranales. La primera posee un $r^2 = 0.9991$ y C.V. = 2.5820% y la curva preparada con sol'n con componentes de membrana, $r^2 = 0.9967$ y C.V. = 8.5961%. El análisis estadístico mostró que no hay diferencia significativa entre las pendientes de ambas curvas y ambas curvas pasan la prueba del intercepto (anexo a2).

1.2 Ibuprofeno

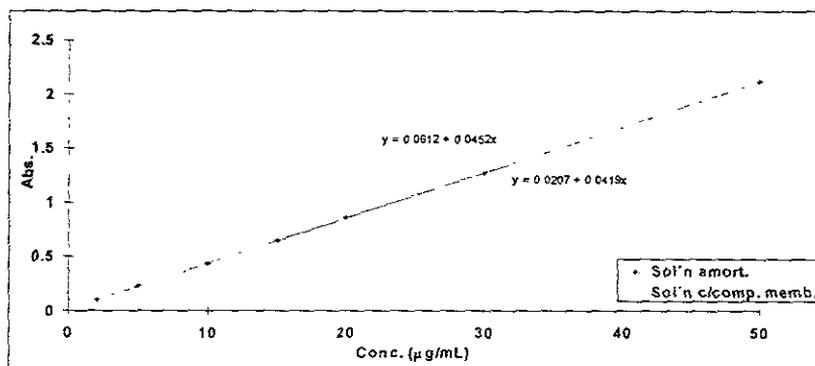


Fig. 16 Curvas de calibración de Ibuprofeno.

En cuanto a la curva de calibración de ibuprofeno con sol'n amortiguadora tiene un valor $r^2=0.9995$ y C.V.= 2.5965% y la curva con sol'n con componentes de membrana posee un $r^2= 0.9974$ y C.V.= 9.8965%. No se encontró diferencia significativa entre las pendientes de ambas curvas y ambas curvas pasan la prueba del intercepto (anexo a2).

1.3. 5-Fluorouracilo

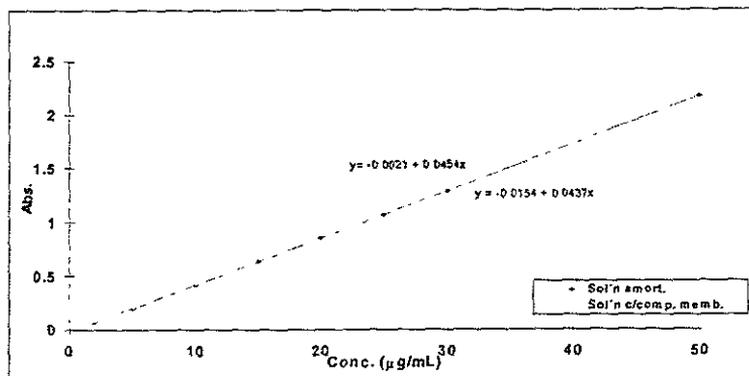


Fig. 17 Curvas de calibración de 5-fluorouracilo.

Finalmente la curva de sol'n amortiguadora de 5-Fluorouracilo está caracterizada por un valor de $r^2= 0.9998$ y C.V.= 1.9301% y la curva con componentes de membrana, $r^2= 0.9982$ y C.V.= 8.6963%. De acuerdo al análisis estadístico de las curvas no se encontró diferencia significativa entre las pendientes de éstas y ambas curvas pasan la prueba del intercepto (anexo a2).

2. Pruebas de solubilidad.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de solubilidad se reporta lo siguiente:

Tabla VIII. Datos de solubilidad (mg/mL) experimental de los principios activos utilizados.

PRINC. ACVO.	PROPILENGLICOL (mg/mL)	SOL'N AMORTIGUADORA (mg/mL)
Cafeína	17.0795 ± 2.1410	23.9897 ± 0.7229
Ibuprofeno	260.0015 ± 2.3799	1.3196 ± 0.0062
5-Fluorouracilo	20.6342 ± 0.8977	13.5163 ± 0.0321

3. Permeaciones.

Las velocidades de permeación de cada principio activo se calcularon con la siguiente fórmula:

$$J = (\Delta Q / \Delta t) / S$$

donde $\Delta Q / \Delta t$ = cantidad de soluto transferida por unidad de tiempo y S = superficie de exposición.

Tabla IX. Velocidades de permeación ($J = \mu\text{g} / \text{h} * \text{cm}^2$)

PRINC. ACVO.	SIN PROMOTOR	DERMAC SR-38	AZONA [®]
Cafeína	194.8292 ± 40.6138	180.6511 ± 34.4425	381.6232 ± 44.2805
Ibuprofeno	132.1998 ± 18.8518	37.4740 ± 1.5271	147.0032 ± 67.9061
5-Fluorouracilo	128.8098 ± 6.1927	56.7716 ± 8.2909	249.5667 ± 28.6453

En las siguientes tres figuras (fig. 18, 19 y 20) se comparan las cinéticas de permeación de cada uno de los fármacos empleados, sin promotor y con los dos promotores propuestos.

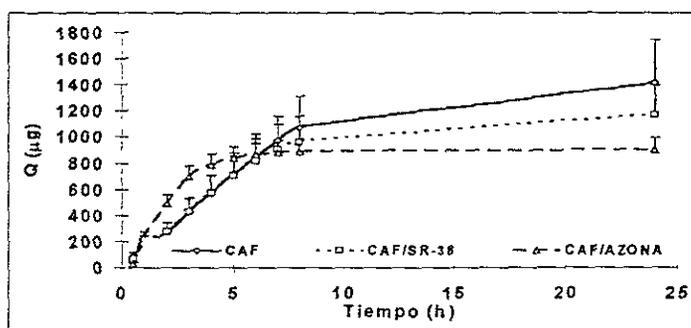


Fig. 18 Cinética de permeación de la Cafeína.

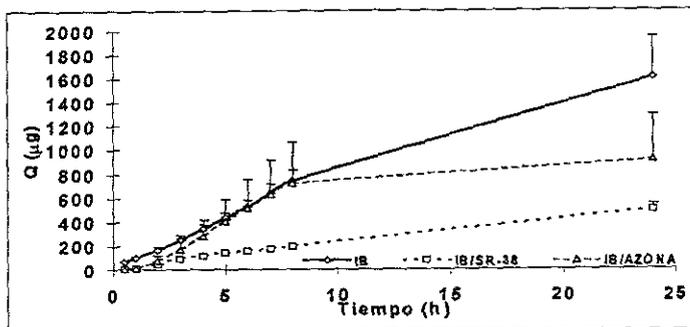


Fig. 19 Cinética de permeación del Ibuprofeno.

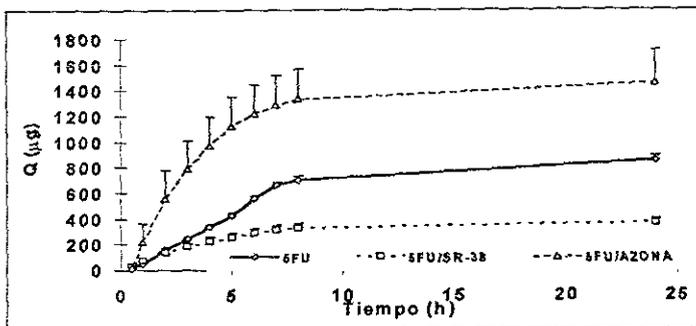


Fig. 20 Cinética de permeación del 5-Fluorouracilo.

En el tratamiento de la mucosa con solución etanólica al final de la permeación permitió determinar la cantidad de fármaco acumulada en éste tejido, como lo muestra la Fig. 21.

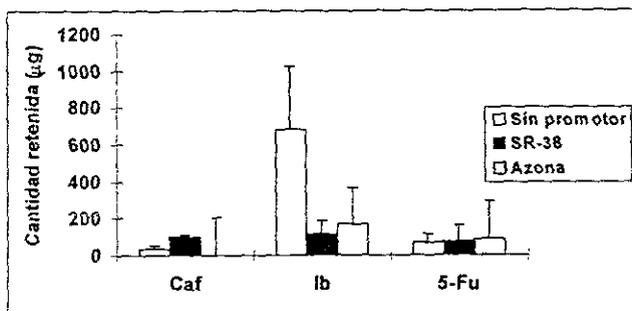


Fig. 21 Cantidad de fármaco retenido en la mucosa oral de cerdo.

Por último se calcularon los factores de promoción de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$EF = J_p / J_{SP}$$

donde: J_p = velocidad de permeación del principio activo utilizando un agente promotor y

J_{SP} = velocidad de permeación del principio activo sin uso de dicho agente.

Tabla X. Factores de promoción.

PROMOTOR	CAFEÍNA	IBUPROFENO	5-FLUOROURACILO
Azona	2.0209 ± 0.4821	1.1310 ± 0.5468	1.9411 ± 0.2415
Dermac SR-38	0.9567 ± 0.2703	0.2883 ± 0.0427	0.4416 ± 0.0679

CAPÍTULO V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos la velocidad de permeación de los tres principios activos sin uso de agente promotor, sigue el siguiente orden: $J_{Caf} > J_{IB} \geq J_{5-Fu}$; ésto implica que se absorbe con mayor velocidad el fármaco de lipofilia intermedia (Cafeína). El fenómeno encontrado, puede deberse muy probablemente, a que el fármaco más lipofílico (Ibuprofeno) posee una gran afinidad por los componentes lipídicos de la membrana mucosal; y a que el principio activo más hidrofílico (5-Fluorouracilo) por la parte polar de las proteínas membranales; ésto se corrobora al observar la cantidad de Ibuprofeno depositada en la mucosa (722.7257 mg), misma que indica una mayor retención de éste fármaco; de forma contraria se comportó la Cafeína, la cual presentó una difusión rápida sin depositarse en el tejido.

La acción de la Azona[®] como agente promotor ha sido asociada, por un lado, a la fluidización de lípidos de la bicapa y por otro lado a la formación de espacios intercelulares. Los resultados muestran un aumento en el flujo de los tres fármacos tratados en éste estudio, que comparados con otros trabajos experimentales^{35, 37, 67} confirman la capacidad de promoción de dicha molécula para cualquier tipo de fármaco, independientemente de su grado de lipofilia. Sin embargo, con el uso del nuevo agente de absorción (Dermac SR-38™) se observa un efecto totalmente opuesto al propuesto en estudios anteriores^{36,39}: las velocidades de permeación se ven disminuidas en comparación con las cinéticas en las que no se utilizó agente; ésto podría sugerir una actividad retardadora por parte del Dermac SR-38™. Una observación importante fue que con el Dermac SR-38™ la velocidad de permeación de la Cafeína, no disminuyó significativamente en comparación con la cinética del fármaco sin agente promotor; no así con los otros dos principios activos (Ibuprofeno y 5-Fluorouracilo) en donde la promoción de la difusividad y la cantidad retenida disminuyó notoriamente. Por otra parte, se encontraron diferencias significativas entre la cantidad de Cafeína retenida en la mucosa sin y con promotor, encontrando una mayor retención con el uso de Dermac SR-38™; probablemente ésto sea debido a la naturaleza dipolar del Dermac SR-38™ la cual captura al fármaco por su caracter nucleofílico.

Son varios los factores que determinan el mecanismo de acción de un promotor. Diversos autores^{4,5,10,13,19,23,34,46,49}, han empleado técnicas como la DSC, FTIR, y rayos-X, entre otras, para tratar de esclarecer su interacción con los componentes membranales y por tanto su efecto en la barrera de permeabilidad. Hadgraft et al^{25,64} propone analizar la distribución de carga de las moléculas moduladoras, ya que ésta propiedad puede condicionar su acción como promotoras o retardadoras. Es por ello, que en éste trabajo, se realizaron modelajes moleculares con Unichem 4.1 Oxford Molecular Inc. y Spartan 5.0 Wavefunction, Inc., de los cuales se obtuvo: la superficie electrostática (Fig. 22), la distancia del anillo de la molécula del agente promotor, así como el gasto energético del movimiento de éstas moléculas entre el anillo y la cadena alquílica (Tabla XI). El análisis de la distribución de cargas en los anillos, arrojó resultados muy interesantes, acordes a lo encontrado por Hadgraft et al^{25,64}, mostrando que la Azona[®] posee una carga positiva uniforme, mientras que el Dermac SR-38[™] presenta una distribución de carga dipolar; en el caso de la Azona su tendencia es la de repeler moléculas lipídicas membranales, permitiendo así, la formación de canales intercelulares, y favoreciendo consecuentemente, el paso de los fármacos; por otra parte el Dermac SR-38[™] tiende a atraer moléculas lipídicas y por tanto dificulta el paso de los fármacos, debido al empaquetamiento entre el agente y los lípidos intercelulares, lo cual aparentemente incrementa el orden de la bicapa.

En cuanto al movimiento libre de las moléculas, se observa que el gasto energético molecular es mínimo, por tanto se asegura la formación de un "poro" en el momento en que la molécula se encuentre en su forma plegada y que la cadena alquílica se haya insertado en los lípidos membranales del tejido, promoviendo la competición por formar puentes de hidrógeno. El tamaño del "poro" se calcula con la distancia de la cabeza polar del agente promotor, en el caso de la Azona[®] es mayor que el Dermac SR-38[™].

Tabla XI. Datos de las estructuras de los promotores.

ΔH_f = calor de formación y μ = momento dipolar

PROMOTOR	OBSERVACIONES	ΔH_f (Kcal/mol)	μ (Debye)	DIST. DEL ANILLO (Å)
Azona	lineal	-128.5831	3.5623	3.9839
Azona	plegada	-128.3008	3.5195	6.1356
SR-38	lineal	-142.6380	5.5193	4.1102
SR-38	plegada	-140.1346	5.1619	5.5156

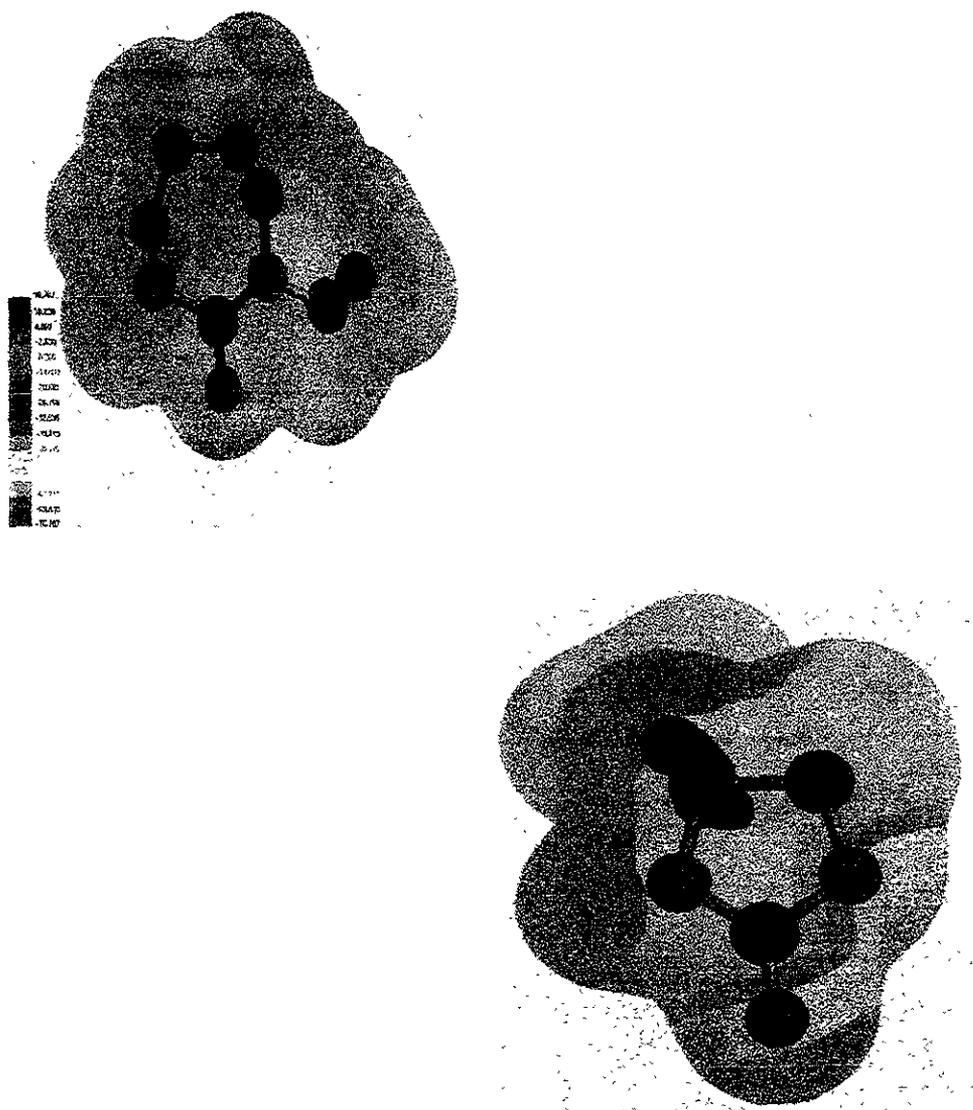


Fig. 22. Superficie del potencial electrostático de la Azona[®] (izquierda) y del 4-deciloazohidin-2-ona Dermac SR-38[™] (derecha).

Hadgraft et al²⁵. propone la disposición de la Azona[®] en la membrana celular de manera intercalada con los lípidos, y formando puentes de hidrógeno entre las cabezas polares del promotor con los grupos polares de los componentes de membrana. En el caso de la Azona[®] argumenta la formación de puentes de hidrógeno del grupo cetona de ésta con los hidroxilos de la ceramida; permitiendo el paso del fármaco por el otro lado del anillo de la Azona[®], en donde no existe formación de puentes de hidrógeno.

Finalmente podemos mencionar que la permeación de Cafeína con Azona[®] presentó a las 3 horas de iniciada la cinética, la difusión de fármaco máxima, encontrando posteriormente valores mínimos de permeación, los cuales no incrementaron significativamente la Q; por ello que el valor de flujo se calculó con la pendiente de la curva hasta el punto de las 3 horas, ésto no afectó en algo la promoción de la Azona[®], incrementando la permeabilidad en un 100%, para éste lapso de tiempo, en comparación con el control.

La experiencia de 5-Fluorouracilo con Azona[®] mostró resultados semejantes a los obtenidos por Araki et al. 1992, observándose un incremento de 100% aproximadamente, mientras que con Ibuprofeno el incremento del flujo fue menor (EF 1.1310). En cuestión de cantidad de 5-fluorouracilo depositada en el tejido resultó poco confiable en análisis estadístico debido a la gran variabilidad en los resultados.

El pretratamiento con Azona[®] produjo una disminución de aproximadamente 75% en la cantidad de Ibuprofeno retenido en el tejido, en comparación con la cantidad retenida del fármaco en la membrana mucosa en la experiencia control; lo que pone de manifiesto una vez más la capacidad de la Azona[®] para formar "poros".

Todas las permeaciones con el Dermac SR-38™ disminuyen las velocidades de flujo (J) en comparación con las permeaciones sin promotor (Tabla IX.); en el caso de Ibuprofeno y 5-Fluorouracilo disminuyen a más de la mitad y en el caso de la Cafeína su disminución no es significativa.

En las experiencias con ambos promotores, el orden de permeación fue $J_{Caf} > J_{S.Fu} > J_{U}$; lo anterior confirma el comportamiento general²³ de las sustancias permeantes, en donde se describe una distribución normal (campana gaussiana) en el gráfico de grado de lipofilia ($\log P$) en función de la capacidad promotora (coef. de permeación), asegurando así el paso de fármacos de lipofilia media (en éste caso Cafeína) con mayor facilidad.

CAPÍTULO VI.

CONCLUSIONES

1. El uso de SR-38™ sobre el tejido mucosal no queratinizado, no presentó un efecto promotor en la permeación de los principios activos utilizados.

2. Se encontró que la distribución de carga dipolar en la molécula del Dermac SR-38™, propicia que ésta actúe como agente retardador de la permeación en tejido mucosal no queratinizado. Se sugiere que la interacción del Dermac SR-38™ con los lípidos intercelulares provoca la condensación de las cadenas lipídicas, incrementando el orden y por lo tanto, dificultando el paso de los fármacos.

3. En el caso de la Azona, se confirma el carácter promotor de permeación de ésta molécula, fundamentando así que ésta actúa como agente promotor de fármacos tanto lipofílicos como hidrofílicos.

4. La formación de un “poro” en la membrana celular está limitada por el movimiento libre de las moléculas “promotoras”, lo cual puede favorecer el paso de los fármacos.

CAPÍTULO VII.

PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos en éste trabajo, dan pauta para que se realicen estudios a profundidad, sobre todo en los siguientes rubros:

Aplicación de fármacos de diversas lipofilias, experimentando con un grupo mayor de éstos.

Para el caso del Dermac SR-38 será de gran utilidad dilucidar el mecanismo de acción aplicando técnicas como DSC, FTIR y/o rayos X.

En cuanto al modelaje molecular, es conveniente enfrentar a dos moléculas (componente membranal y agente promotor) de manera teórica computacional y comparar las posibles interacciones de estos dos elementos según el gasto energético, lo anterior nos llevará a una aproximación de los sucesos in vitro realizados.

REFERENCIAS.

1. Araki, M., et al. Interaction of percutaneous absorption enhancer with stratum corneum of hamster cheek pouch; an electrophysiological study. *Int. J. Pharm.* 81(1992) 39-47.
2. Bach, L., et al. Buccal absorption of ketobemidone and various ester prodrugs in the rat. *Int. J. Pharm.* 88(1992)243-250.
3. Bach, L., et al. Enhanced delivery of ketobemidone through porcine buccal mucosa in vitro via more lipophilic ester prodrugs. *Int. J. Pharm.* 88(1992)237-242.
4. Barry, B. Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Cont. Rel.* 6(1987)85-97.
5. Beastall, J., et al. Mechanism of action of Azone as a percutaneous penetration enhancer: lipid bilayer fluidity and transition temperature effects. *Int. J. Pharm.* 43(1988)207-213.
6. Bialik, W., et al. Some factors affecting the in vitro penetration of ibuprofen through human skin. *Int. J. Pharm.* 92(1993)219-223.
7. Bloom, W. and Fawcett, D. A textbook of Histology. B. Saunders Co., USA, 1962. p.p. 511-512.
8. Chien, Y. Novel Drug Delivery Systems. Marcel Dekker, U.S.A., 1992, pp 197-228.
9. Chun, I. K. & Chien, Y. W. Transmucosal delivery of methionine enkephalin. I. Solution stability and kinetics of degradation in various rabbit mucosa extracts. *J. Pharm. Sciences*, 82 (1993) 373-378.
10. Corbo, D. C., Liu, J.-C. and Chien, Y. Characterization of the barrier properties of mucosal membranes. *J. Pharm. Sciences.*, 79 (1990) 202-206.
11. Coutel-Egros, A., et al. Combined effects of pH, cosolvent and penetration enhancers on the in vitro buccal absorption of propranolol through excised hamster cheek pouch. *Int. J. Pharm.* 84(1992)117-128.
12. Curatolo, W. The lipoidal permeability barriers of the skin and alimentary tract. *Pharm. Res.* 4(1987)271-277.
13. De Vries, et al. Localization of the permeability barrier inside porcine buccal mucosa: a combined in vitro study of drug permeability, electrical resistance and tissue morphology. *Int. J. Pharm.*, 76 (1991) 25-35.
14. Dick, I. P. and Scoot, R. C. Pig ear skin as an in-vitro model for human skin permeability. *J. Pharm. Pharmacol.*, 44 (1992) 640-645.
15. Dowty, M. E., Knuth, K. E. and Robinson, J. R. Enzyme characterization studies on the rate-limiting barrier in rabbit buccal mucosa. *Int. J. Pharm.*, 88 (1992) 293-302.

16. Dowty, M. E., Knuth, K. E., Irons, B. K. and Robinson, J. R. Transport of thyrotropin releasing hormone in rabbit buccal mucosa in vitro. *Pharm. Res.*, 9 (1992) 1113-1121.
17. Duchene, D. and Ponchel, G. Nasal administration: a tool for tomorrow's systemic administration of drugs. *Drug Dev. and Ind. Pharmacy*. 19(1993)101-122.
18. Fuhrman, L. C. and Michniak, B. B. Evaluation of novel penetration enhancers utilizing human cadaver skin in vitro. *Proc. 22nd. Int. Symp. Cont. Rel. Bioact. Mater* (1995)688-689.
19. Gandhi, R. and Robins. Mechanisms of penetration enhancement for transbuccal delivery of salicylic acid. *Int. J. Pharm.* 85(1992)129-140.
20. Ganem, Q. A., Kalia, Y. N., Falson-Rieg, F. & Buri, P. Mechanisms of oral permeation enhancement. *Int. J. Pharm.*, 156 (1997)127-142.
21. Ganga, S., Ramarao, P. and Singh, J. Effect of Azone on the iontophoretic transdermal delivery of metoprolol tartrate through human epidermis in vitro. *J. Cont. Rel.* 42(1996)57-64.
22. González-Younes, Y., Wagner, J. G., Gaines, D. A., Ferry, J.J. and Hageman, J. M. Absorption of plurbiprofen through human buccal mucosa. *J. Pharm. Sciences* 80(1991)820-823.
23. Goodman, M. and Barry, B.W. Differential scanning calorimetry (DSC) of human stratum corneum: effect of azone. *J. Pharm. Pharmacol.* 37(1985)26.
24. Hadgraft, J., Walters, K. A. and Wotton, P.K. Facilitated transport of sodium salicylate across an artificial lipid membrane by azone. *J. Pharm. Pharmacol.* 37(1985)725-727.
25. Hadgraft, J., Peck, J., Williams, D. G., Pugh, W. J. and Allan, G. Mechanisms of action of skin penetration enhancers/retarders: azone and analogues. *Int. J. Pharm.* 141(1996)17-25.
26. Hussain, A. A., Iseki, K., Kagoshima, M. and Dittert, L. M. Absorption of acetylsalicylic acid from the rat nasal cavity. *J. Pharm. Sciences.* 81(1992)348-349.
27. Kellaway, Y. W., Warren, S. J. and Timmins, P. Hydrogels for buccal administration. *APGI (European Symposium)* (1991)101-109.
28. Kurosaki, Y., Takatori, T., Kitayama, M. Nakayama, T. and Kimura, T. Application of propranolol to the keratinized oral mucosa: avoidance of first-pass elimination and the use of 1-dodecylazacycloheptan-2-one (Azone) as an absorption enhancer of bioadhesive film-dosage form. *J. Pharmacobio Dyn.* 11(1988)824-832.
29. Kurosaki, Y., Hisaichi, S., Nakayama, T. and Kimura, T. Enhancing effect of of 1-dodecylazacycloheptan-2-one (Azone) on the absorption of salicylic acid from keratinized oral mucosa and the duration of enhancement in vivo. *Int. J. Pharm.* 51(1989)47-54.

30. Kurosaki, Y., Hisaichi, S., Hong, L., Nakayama, T. and Kimura, T. Enhanced permeability of keratinized oral-mucosa to salicylic acid with of 1-dodecylazacycloheptan-2-one (Azone). In vitro studies in hamster cheek pouch. *Int. J. Pharm.* 49(1989)47-55.
31. Le Brun, P. P. H., Fox, P. L. A., de Vries, M. E. and Boddé, H. E. In vitro penetration of some β -adrenoreceptor blocking drugs through porcine buccal mucosa. *Int. J. Pharm.*, 49 (1989) 141-145.
32. Lesch, C. A., Squier, C. A., Cruchley, A., Williams, D. M. and Speight, P. The permeability of Human Oral Mucosa and Skin to Water. *J. Dent. Res.* 68(1989)1345-1349.
33. Lewis, D. and Hadgraft, J. Mixed monolayers of dipalmitoylphosphatidylcholine with Azone or oleic acid at the air-water interface. *Int. J. Pharm.* 65(1990)211-218.
34. Marjukka, T. T., Urtti, A., Paronen, P., Audus, K. L. and Howard, R.J. Effect of some penetration enhancers of epithelial membrane lipid domains: evidence from fluorescence spectroscopy studies. *Pharm. Res.* 11(1994)288-294.
35. Okamoto, H., Hashida, M. and Sezaki, H. Structure-activity relationship of 1-alkyl- or 1-alkenylazacycloalkane derivatives as percutaneous penetration enhancers. *J. Pharm. Sciences.* 77(1988)418-424.
36. Pfister, W. R. and Rajadhyaksha, V. J. Oxazolidinones. a new class of cyclic urethane transdermal enhancer (CUTE) *Pharm. Res.* PHREEB 12(9):S280(1995).
37. Phillips, C. A. and Michniak, B. B. Transdermal delivery of drugs with differing lipophilicities using Azone analogs as dermal penetration enhancers. *J. Pharm. Sciences.* 84(1995)1427-1433.
38. Ponc, M., Haverkort, M., Lan, Y. S., Kempenaar, J., Brussee, J. and Bodde, H. Toxicity screening of N-alkylazacycloheptan-2-one derivatives in cultured human skin cells: structure-toxicity relationships. *J. Pharm. Sciences.* 78(1989)738-741.
39. Rajadhyaksha, V. J. and Pfister, W. R. Oxazolidinones optimizing delivery of active ingredients in skin care products. Pharmetrix División of TCPI, Menlo Park CA 94025.
40. Rathbone, M. J. & Hadgraft, J. Absorption of drugs from the human oral cavity. *Int. J. Pharm.*, 74 (1991) 9-24.
41. Rathbone, M. J. Human buccal absorption. I. A method for estimating the transfer kinetics of drugs across the human buccal membrane. *Int. J. Pharm.*, 69 (1991) 103-108.
42. Rathbone, M. J. Human buccal absorption. II. A comparative study of the buccal absorption of some parahydroxybenzoic acid derivatives using the buccal absorption test and a buccal perfusion cell. *Int. J. Pharm.*, 74 (1991) 189-194.

43. Rathbone, M. J. and Tucker, Y. G. Mechanisms, barriers and pathways of oral mucosal drug permeation. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 12(1993)41-60.
44. Rathbone, M. J. Oral mucosal drug delivery. Marcel Dekker, U.S.A., 1996. pp. 1-49.
45. Ruland, A., Kreuter, J. and Rytting, J. H. Transdermal delivery of the tetrapeptide Hisetal (melanotropin (6-9)): II. Effect of various penetration enhancers. In vitro study across human skin. *Int. J. Pharm.* 103(1994)77-80.
46. Schückler, F., Bouwstra, J. A., Gooris, G. S. and Lee, G. An X-ray diffraction study of some model stratum corneum lipids containing Azone and dodecyl-L-pyroglytamate. *J. Cont. Rel.* 23(1993)27-36.
47. Schückler, F. and Lee, G. The influence of Azone on monomolecular films of some stratum corneum lipids. *Int. J. Pharm.* 70(1991)173-186.
48. Shao, Z. and Mitra, A. K. Nasal membrane and intracellular protein and enzyme release by bile salts and bile salt-fatty acid mixed micelles: correlation with facilitated drug transport. *Pharm. Res.* 9(1992)1184-1185.
49. Squier, C. A., Cox, P. and Wertz, W. Lipid content and water permeability of skin and oral mucosa. *J. Inv. Derm.* January (1991)123-126.
50. Sveinsson, S. J. and Mezei, M. In vitro oral mucosal absorption of liposomal triamcinolone acetonide. *Pharm. Res.* 9(1992)1359-1361.
51. Weiss, L. and Greep, R. *Histology.* Mc Graw Hill, USA, 1977. pp. 644-651.
52. Wilson, C. G. and Washington, N. *Physiological Pharmaceutics. Biological Barriers to drug absorption.* John Wiley & sons, Great Britain, 1989. pp. 11-36.
53. Yamahara, H., Suzuki, T., Mizobe, M., Noda, K. and Samejima, M. In situ perfusion system for oral mucosal absorption in dogs. *J. Pharm. Sciences*, 79 (1990) 963-967.
54. Jacques, Y. *Systemes mucoadhesifs pour absorption buccale caracterisation des materiaux polymeriques et evaluation de dispositifs bioadhesifs.* Dr. tesis. Université de Genève (1996).
55. Martin, A. *Physical Pharmacy.* U.S.A., Lea & Febiger. 3a ed., 1983 p.p. 399-408.
56. de Vries, M. *Buccal drug absorption and development of mucoadhesive polymer systems.* Dr. tesis. Université de Genève (1991).
57. Ganem-Quintanar, A. *Étude de la permeabilité de la muqueuse orale: évaluation de différentes approches pour augmenter le passage des principes actifs.* Dr. tesis. Université de Genève (1997).

58. Jacob, S., Francone, C. and Lossow, W. *Anatomía y Fisiología humana*. Interamericana, México, 1982. p.p. 78-83, 481-489.
59. Kurosaki, Y., Nishimura, H., Trerao, K., Nakayama, T. & Kimura, T. Existence of a specialized absorption mechanism for cefadroxil, an aminocephalosporin antibiotic, in the human oral cavity. *Int. J. Pharm.* 82(1992)165-169.
60. Clarke's *Isolation and Identification of drugs*. The Pharmaceutical press, London, 1986, 2a. ed. p.p.420-422, 627, 677-378.
61. U.S.P. XXI
62. *Pharmacopeia British* p.p. 507-508.
63. *The Merck Index*. 12a ed. Merck & Co., Inc, U.S.A., 1996. p.p. 268, 708-709, 820 y 839.
64. Hoelgaard, A., Mollgaard, B. & Baker, E. Vehicle effect on topical drug delivery. IV. Effect of N-methylpyrrolidone and polar lipids on percutaneous drug transport. *Int. J. Pharm.* 43(1988)233-240.
65. Hadgraft, J., Davis, A.F. & Falson-Rieg, F. Enhancing the bioavailability of topical and transdermal drugs. *Bulletin Technique Gattefossé* (1993)51-58
66. Müller, B.W., Köpke, K. & Vollmer, U. Skinpenetration enhancement by supersaturated systems. *Bulletin Technique Gattefossé* (1993)43-50.
67. Sugibayashi, K., Hosoya, K., Morimoto, Y. & Higuchi, W. Effect of the absorption enhancer, Azone, on the transport of 5-fluorouracil across hairless rat skin. *J. Pharm. Pharmacol.* 37(1985)578-580.
68. Shah, J. Analysis of permeation data: evaluation of the lag time method. *Int. J. Pharm.* 90(1993)161-169.
69. Parry, G., Bunge, A., Silcox, G., Pershing, L. & Pershing, D. Percutaneous absorption of benzoic acid across human skin. I. In vitro experiments and mathematical modeling. *Pharm. R.* 7(1990)230-236.
70. Cabañas, M. I. Desarrollo de un sistema disperso de liberación controlada a partir de una fase cúbica cristalina líquida de monooleína-agua. Lic. tesis. F.E.S. Cuautitlán. U.N.A.M., (1999).

ANEXO

a1. Monografía de los principios activos utilizados en el estudio.

1. Cafeína^{60,61}.

$C_8H_{10}N_4O_2$

PM 194.19

Conocida como 7-metilteofilina, 1,3,7-trimetilxantina, metilteobromina, 1,3,7-trimetil-4,6-dioxopurina, cafeína anhidra, guaranina, teina, 1*H*-purina-2,6-diona,3,7-dihidro-1,3,7-trimetil, coffeinum monohydricum

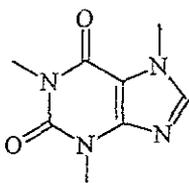


Fig. 23. Estructura molecular de la Cafeína.

CARACTERÍSTICAS: cristales blancos o polvo blanco cristalino, incoloro y de sabor amargo. Es un alcaloide obtenido decafé; puede obtenerse por secamiento de *Camelia sinesis* o sintetizado en laboratorio.

USOS: estimulante del sistema nervioso central.

SOLUBILIDAD: ligeramente soluble en pirroles y ácidos diluidos. Un gramo se disuelve en 6 mL de cloroformo, 600 mL de éter, 100 mL de benceno, 22mL de benceno hirviendo, 75 mL de alcohol, 25 mL de alcohol a 60°C, 50 mL de acetona, 50 mL de agua y 6 mL de agua a 80°C. La solubilidad de la cafeína en agua es incrementada en presencia de ácidos orgánicos o sus sales alcalinas como benzoatos, salicilatos, citratos o cinamatos.

Su bajo caracter básico provoca la no formación de sales estables y frecuentemente sus sales son ácidos fuertes (hidroclorida o hidrobromida).

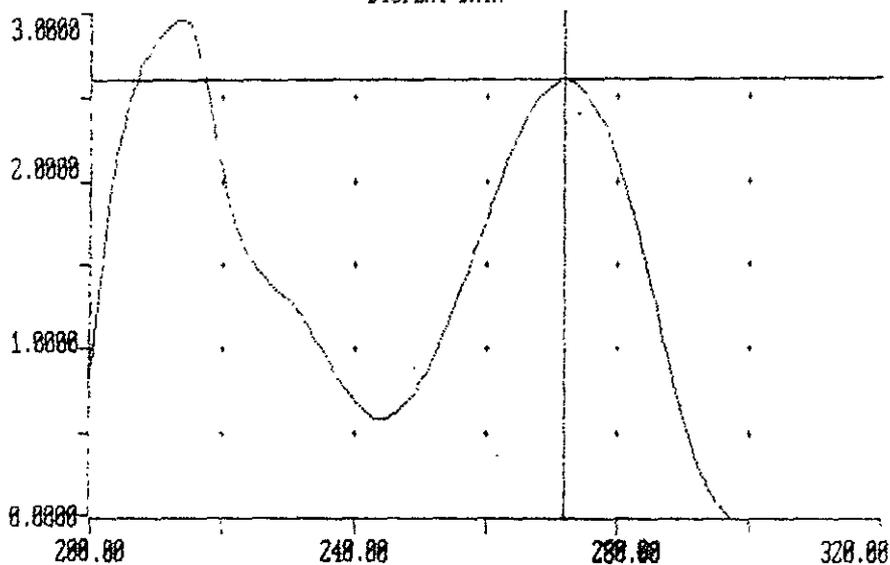
COEFICIENTE DE PARTICIÓN: $\text{Log } P_{(\text{octano}/\text{agua pH } 7.4)} = -0.07$

IDENTIFICACIÓN: por UV, IR, HPLC, espectroscopía de masas, cromatografía de gases y capa fina y reacciones coloridas. La respuesta máxima en UV es de 272 nm en metanol, 273 en etanol, 272, 275 en HCl 0.1N y 275 en NaOH 0.1N.

-0.0791	Cafeina			10 Sep 1998	320.00
Gain	163	SBW	2.0		
ABS	Baseline	ON	Page	3	NM

Tagged File 1 CURRENT#

DISPLAY DATA



ABS : 0.0000 -> 3.0000 NM : 200.00 -> 320.00

Cursor X = 272.000 Cursor Y = 2.5992

Arrows: Move Cursor ENTER: Accept Position ESC: Escape

Fig. 24. Espectro UV experimental de la Cafeina.

2. Ibuprofeno^{60,61}.

$C_{13}H_{18}O_2$

PM 206.3

Conocido como ácido 2-(4-isobutilfenil) propiónico.

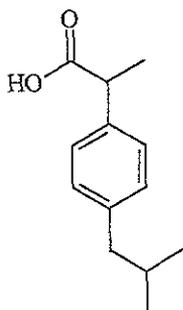


Fig. 25. Estructura molecular del Ibuprofeno.

CARACTERÍSTICAS: polvo o cristales blancos, posee un p.f. de 75-78°C y un pKa de 4.4 y 5.2.

USOS: analgésico.

SOLUBILIDAD: insoluble en agua, soluble en solventes orgánicos, en etanol (0.667 g/mL), en cloroformo (1 g/mL) y en éter (0.5 g/mL).

COEFICIENTE DE PARTICIÓN: $\text{Log } P_{(\text{octanol/agua})} = 3.51$

IDENTIFICACIÓN: por UV, IR, espectroscopía de masas, HPLC, cromatografía de capa fina y de gases y por reacciones coloridas. La respuesta máxima en UV es de 265 y 273nm en álcali acuoso.

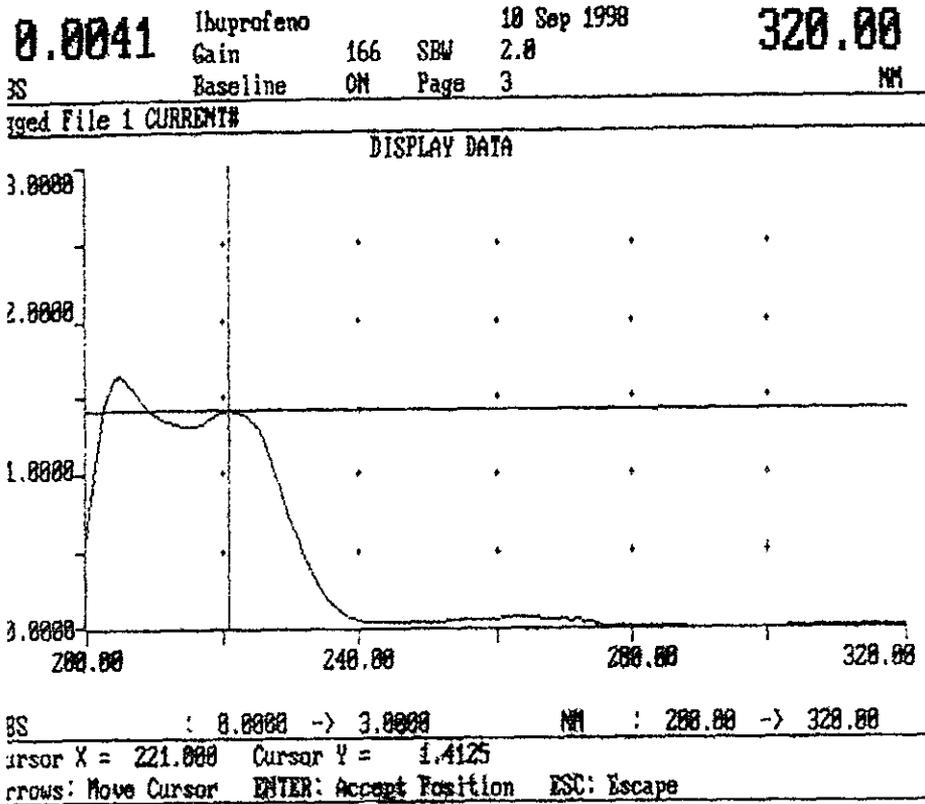


Fig. 26. Espectro UV experimental del Ibuprofeno.

3. 5-Fluorouracilo^{60,61}.

$C_4H_3FN_2O_2$

PM 130.1

Conocido como 5-fluoropirimidina-2,4 (1 H, 3 H)-diona..

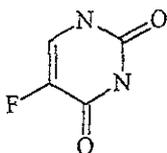


Fig. 27. Estructura molecular del 5-Fluorouracilo.

CARACTERÍSTICAS: polvo blanco cristalino, se descompone a 282°C, posee un p.f. de 282°C y un pKa de 8.0 y 13.0. Es irritante en la piel y mucosas.

USOS: en el tratamiento de cáncer, antineoplásico.

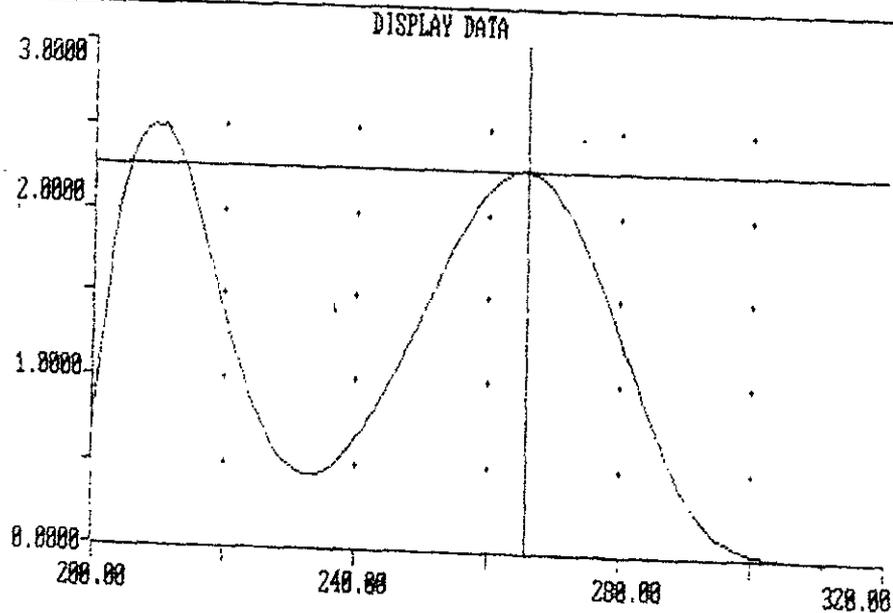
SOLUBILIDAD: escasamente soluble en agua, legeramente soluble en etanol, insoluble en cloroformo y éter.

COEFICIENTE DE PARTICIÓN: $\text{Log } P_{(\text{octanol}/\text{agua})} = -0.95$

IDENTIFICACIÓN: por UV, IR. La respuesta máxima en UV es de 265-266 nm en HCl 0.1N.

-0.1312 5-Fluorouracilo 10 Sep 1998 320.00
 Gain 162 SBW 2.8
 ABS Baseline ON Page 3 NM

Tagged File 1 CURRENT#



ABS : 0.0000 -> 3.0000 NM : 200.00 -> 320.00

Cursor X = 266.000 Cursor Y = 2.2600

Arrows: Move Cursor ENTER: Accept Position ESC: Escape

Fig. 28. Espectro UV experimental del 5-fluorouracilo.

1 CAFEÍNA

Conc CAF	Abs SB	Conc CAF	Abs CM
10	0 4916	2	-0 1134
20	1 012	5	0 2456
25	1 2167	10	0 4264
30	1 4351	30	1 448
50	2 4283	50	2 5824

std de reg SB

r	0 99955982
r ²	0 999119834
R ² ajustado	0.998826446
Error típico	0 024424342
Observaciones	5

ANOVA

	G.L.	SC	MC	F	Fcrítico
Regresión	1	2.031515567	2 031515567	3405 44921	1 10854E-05
Residuos	3	0 001789645	0.000596548		
Total	4	2 033305212			

	Coef	Error típico	Estadístico t	Prob	Inf 95%	Sup 95%
Intercepción	0 019463636	0.024768849	0 785811093	0 489328125	-0.05936197	0 098289243
Conc CAF	0.048047273	0.000823344	58.35622683	1.10854E-05	0.045427021	0 050667525

std de reg CM

r	0 998909351
r ²	0 997819891
R ² ajustado	0.996729836
Error típico	0 061585975
Observaciones	4

ANOVA

	G.L.	SC	MC	F	Fcrítico
Regresión	1	3.471902975	3.471902975	915 3853075	0.001090649
Residuos	2	0 007585665	0 003792832		
Total	3	3 47948864			

	Coef.	Error típico	Estadístico t	Prob	Inf 95%	Sup 95%
Intercepción	-0 066794089	0.051326702	-1.301351659	0 322865923	-0.287635216	0 154047039
Conc. CAF	0 05231133	0.001728995	30.25533519	0 001090649	0.044872059	0.059750601

a2. Análisis estadístico de las curvas de calibración.

CAF

pend SB	pend CM
0 04916	-0 0567
0 0506	0 04912
0 048668	0 04264
0 047836667	0 048266667
0 048566	0 051648

Pba F p/varianzas de 2 mtras

	pend SB	pend CM
Media	0.048966133	0 026994933
Varianza	1.05795E-06	0.002199847
Observaciones	5	5
G.L	4	4
F	0.000480919	
P(F<=f) una cola	0.999999307	
Fcrítico (una cola)	0 156537894	

Pba t p/2 mtras suponiendo varianzas iguales

	pend SB	pend CM
Media	0 048966133	0 026994933
Varianza	1.05795E-06	0.002199847
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	0 001100453	
Dif. hipotética de medias	0	
G.L	8	
t calculada	1.04722045	
P(T<=t) una cola	0 182801802	
t crítico (una cola)	1 85954832	
P(T<=t) dos colas	0 325603604	
t crítico (dos colas)	2 306005626	

2 IBUPROFENO

Conc IB	Abs SB	Conc IB	Abs CM
10	0 4376	2	0 1282
15	0 6489	5	0 2402
20	0 8767	10	0 5777
30	1 2541	30	1 4487
50	2 1222	50	2 2935

std de reg SB

r	0,999735916
r2	0 999471901
R^2 ajustado	0,999295868
Error típico	0 017579714
Observaciones	5

ANOVA

	G L	SC	MC	F	Fcrítico
Regresión	1	1 754688321	1 754688321	5677 751624	5 15147E-06
Residuos	3	0 000927139	0 000309046		
Total	4	1 75561546			

	Coef	Error típico	Estadístico t	Prob	Inf 95%	Sup 95%
Intercepción	0 020675	0 015967568	1 294812091	0 286032413	-0 030140975	0 071490975
Conc IB	0 041889	0 000555919	75 35065682	5 15147E-06	0 040119815	0 043658185

std de reg CM

r	0 998712398
r2	0 997426454
R^2 ajustado	0 996568606
Error típico	0 053773223
Observaciones	5

ANOVA

	G L	SC	MC	F	Fcrítico
Regresión	1	3 362036453	3 362036453	1162 706982	5 54526E-05
Residuos	3	0 008674679	0 00289156		
Total	4	3 370711132			

	Coef.	Error típico	Estadístico t	Prob	Inf 95%	Sup 95%
Intercepción	0 061204699	0 035199276	1 738605626	0 180453567	-0 050815212	0 173224609
Conc IB	0 045178108	0 00132493	34 09848944	5 54526E-05	0 040861586	0 049394631

IB

pend SB	pend. CM
0 04376	0 0641
0 04326	0 04804
0 043835	0 05777
0,041803333	0,04829
0,042444	0 04587

Pba F p/varianzas de 2 mtras

	pend SB	pend. CM
Media	0 043020467	0 052814
Varianza	7 70369E-07	6,08531E-05
Observaciones	5	5
G.L.	4	4
F	0,012659487	
P(F<=f) una cola	0 999535065	
Crítico (una cola)	0 156537894	

Pba t p/2 mtras suponiendo varianzas iguales

	pend SB	pend CM
Media	0 043020467	0,052814
Varianza	7,70369E-07	6 08531E-05
Observaciones	5	5
Varianza agrupada	3 08117E-05	
Dif. hipotética de medias	0	
G.L.	8	
t calculada	-2 789659706	
P(T<=t) una cola	0 011785339	
t crítico (una cola)	1,85954832	
P(T<=t) dos colas	0 023570679	
t crítico (dos colas)	2 306005626	

3 5-FLUOROURACILO

Conc 5FU	Abs SB	Conc 5FU	Abs. CM
10	0 4262	2	0 0933
15	0 6352	5	0 254
20	0 8657	10	0 4448
25	1 0782	30	1 2987
30	1,2789	50	2 3041
50	2 174		

std de reg SB

r	0 999897514
r ²	0 999795039
R ² ajustado	0 999743799
Error típico	0 00988651
Observaciones	6

ANOVA

	GL	SC	MC	F	Fcritico
Regresión	1	1 907156241	1,90715624	19511 93042	1,57544E-08
Residuos	4	0 000390972	9,7743E-05		
Total	5	1 907547213			

	Coef	Error típico	Estadístico t	Prob	Inf 95%	Sup 95%
Intercepción	-0 015408333	0 008796587	-1 75162634	0 154722046	-0,039831625	0,009014958
Conc 5FU	0 043671	0,000312639	139 685112	1 57544E-08	0,042802973	0,044539027

std de reg CM

r	0 999122099
r ²	0 998244968
R ² ajustado	0 997659957
Error típico	0 044621805
Observaciones	5

ANOVA

	GL	SC	MC	F	Fcritico
Regresión	1	3 397563911	3 39756391	1706,370611	3 12209E-05
Residuos	3	0,005973317	0 00199111		
Total	4	3 403537228			

	Coef.	Error típico	Estadístico t	Prob	Inf 95%	Sup 95%
Intercepción	-0 00209399	0 029208873	-0,0716902	0 947360261	-0,095049746	0 090861767
Conc 5FU	0 045416185	0 001099446	41 308239	3 12209E-05	0 041917253	0 048915117

5FU

pend SB	pend. CM
0.04262	0.04665
0.042346667	0.0508
0.043285	0.04448
0.043128	0.04329
0.04263	0.046082
0.04348	

Pba F p/varianzas de 2 mtras

	pend SB	pend CM
Media	0.042914944	0.0462604
Varianza	1.98549E-07	8.19617E-06
Observaciones	6	5
G.L	5	4
F	0.024224648	
P(F<=f) una cola	0.998448703	
Fcrítico (una cola)	0.15984547	

Pba t p/2 mtras suponiendo varianzas iguales

	pend SB	pend CM
Media	0.042914944	0.0462604
Varianza	1.98549E-07	8.19617E-06
Observaciones	6	5
Varianza agrupada	3.75305E-06	
Dif. hipotética de medias	0	
G.L	9	
t calculada	-2.851855411	
P(T<=t) una cola	0.009515752	
t crítico (una cola)	1.833113856	
P(T<=t) dos colas	0.019031503	
t crítico (dos colas)	2.262158887	

a3. Análisis estadístico de la cantidad de fármaco depositado en la mucosa.

1 CAFEINA

	CAF	CAF/SR-38
	15 0354	104 6256
	35 298	109 8624
	43 0974	91 566
	67 9902	98 8044
	21 6768	96,4884
	23 2164	
PROM	34 3857	100 26936
DESV. STD.	19 32196546	7 127297612
CV	56 19186599	7 108151096

Pba F p/Varianzas de 2 mtras

	CAF	CAF/SR-38
Media	34,3857	100 26936
Varianza	373,338388	60 79837125
Observaciones	6	5
Grados de libertad	5	4
F	7 349416504	
P(F<=f) una cola	0 038098892	
Valor crítico para F (una cola)	6 256072993	

Pba t p/2 mtras suponiendo varianzas desiguales

	CAF	CAF/SR-38
Media	34 3857	100 26936
Varianza	373,338388	50 79837125
Observaciones	6	5
Dif. hipotética de medias	0	
G L	7	
t calculado	-7 743908468	
P(T<=t) una cola	5 60641E-05	
t crítico (una cola)	1 894577508	
P(T<=t) dos colas	0 000112128	
t crítico (dos colas)	2 36462258	

2. IBUPROFENO

	IB	IB/SR-38	IB/AZONA
	725.7876	88.2212	269.7345
	763.9115	150.531	204.4425
	453.9823	147.2124	222.177
	757.2212	142.3274	128.3694
	772.354		226.3186
PROM	694.65132	132.073	210.2124
DESV. STD.	135.6841129	29.42806075	51.65688917
CV	19.53269346	22.28166298	24.57366415

ANOVA (1 factor)

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
IB	5	3473.2566	694.65132	18410.1785
IB/SR-38	4	528.292	132.073	866.0107597
IB/AZONA	5	1051.062	210.2124	2668.434199

ANOVA

Fuente	SC	GL	MC	F	Probabilidad	Fcritico
Entre gpos	879930.6657	2	439965.3328	55.68381536	1.75992E-06	3.982307817
Dentro de los gpos	86912.48309	11	7901.134826			
Total	966843.1488	13				

Pba Duncan

GL	11
SD	25.49127218

para pba de		2	3
R critico		3.11	3.27
menor intervalo significativo		79.27785648	83.35646003
Fuente	IB/SR-38	IB/AZONA	IB
Media	132.073	210.2124	694.6513

IB - IB/SR38	562.5783
IB - IB/AZONA	484.4369

3 5-FLUOROURACILO

	5FU	5FU/5R-3a	5FU/AZONA
	39 5868	166 2066	50 9275
	37 0813	15 3231	160 5626
	22 022	42 3824	353.1428
	28 1934	51 3758	18 969
	43 5429	37 2659	0.6857
	20 6769		
PROM	31 85055	62 51076	116 86152
DESV. STD.	9 578590227	59 46836061	145 9124515
CV	30 07354732	95 13298889	124 8592792

CAFEINA

Tiempo (hrs.)	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0.5	129.4531	111.8087	75.694	94.761	60.3441	66.5162	89.7629	27.1665
1	249.8432	195.7342	140.3116	160.3422	131.5181	134.1625	168.652	46.4028
2	386.9942	305.042	226.8699	273.0401	213.6539	229.8585	272.5764	65.6223
3	643.2447	440.369	354.4856	424.6806	339.1893	362.7934	429.1271	111.9464
4	831.694	521.4206	505.9216	569.6959	460.4913	515.0707	567.3824	134.103
5	1033.5487	649.3996	632.1625	704.4722	584.4091	692.4722	716.0774	161.4336
6	1187.2897	784.2447	741.3843	832.9847	680.8967	837.9177	844.1195	178.1621
7	1323.3728	890.5067	853.7896	963.6137	788.0535	991.107	968.4072	188.8237
8	1509.6711	910.9674	960.3785	1079.3231	886.847	1105.4225	1075.4349	230.3598
24	1886.0306	941.8967	1348.5315	1383.7973	1270.2963	1662.8374	1415.565	326.6339
D	556.1759	392.0764	318.9063	352.9789	380.4435	357.5902.99	596317.2619	1459692.938
M	19.7552	40.4397	48.4015	73.8126	26.5353	28.1071	39.5086	19.7241
A	60.962	84.4789	12.2177	25.1436	9.3857	-30.966	26.8703	
B	184.8343	110.9365	120.3024	133.606	111.2584	142.8497	133.9645	
r	0.9977	0.9948	0.999	0.9995	0.9992	0.998	0.9991	
r^2	0.9954	0.9896	0.998	0.9991	0.9984	0.9961	0.9983	
J	268.8107	161.3387	174.9598	194.3078	161.8068	207.7512	194.8292	40.6138

CAF/SR-38

Tiempo (hrs.)	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0.5	76.4741	60.7801	34.6921	66.5391	73.4168	91.5487	67.2418	19.0573
1	156.0229	109.0152	71.5239	106.9674	166.6309	199.2676	138.238	50.3296
2	306.3212	246.6912	174.5764	227.2198	343.1931	352.7323	275.1223	70.4879
3	474.9292	397.1099	280.8728	342.2065	529.9474	528.172	425.5396	102.523
4	630.4847	530.6816	388.8126	451.5401	723.5764	708.8518	572.3245	137.7672
5	754.0755	663.6682	497.1309	579.0544	866.8021	868.9674	704.9498	152.4819
6	839.3518	803.5898	581.3919	665.1998	952.4655	1032.7227	812.4536	169.7039
7	925.1357	907.3307	651.2753	747.2237	1003.4196	1182.8231	902.868	187.8964
8	955.0697	991.0411	701.7217	820.1099	1028.3546	1265.217	960.2523	192.4027
24	1115.5956	1257.1892	896.2055	967.1414	1222.4369	1531.0869	1164.9392	227.8828
D	129.1778	95.5869	241.9732	125.8508	92.0535	180.826	144.2447	57.5254
M	115.6175	120.9637	102.2868	86.2485	109.6749	107.3116	107.0172	12.0775
A	69.4211	-0.7385	-4.134	22.5135	89.9377	39.7453	36.1242	
B	123.0979	129.2206	93.6768	104.2038	134.2018323	160.893	124.2156	
r	0.985	0.9979	0.9956	0.9971	0.974884057	0.9975	0.9934	
r^2	0.9703	0.9959	0.9912	0.9942	0.9503	0.9951	0.9869	
J	179.0255	187.93	136.2373	151.5471	195.1742	233.9921	180.651	34.4425

a4. Datos numéricos de las cinéticas de permeación.

CAF/AZONA

Tiempo (hrs).	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0.5	19.0087	19.4768	37.3414	37.1529	21.6676	20.5105	25.8597	8.8682
1	188.6057	208.011	284.5208	286.3021	193.839	172.4378	222.2861	50.2064
2	416.4252	443.2156	575.6726	557.0019	518.6397	426.0791	489.5057	69.7649
3	585.5671	600.9678	755.9831	810.2011	705.5292	696.2458	692.4157	87.0404
4	675.1632	695.0627	847.0095	894.4015	796.6336	788.2084	782.7465	84.9492
5	735.3701	739.7548	905.5751	946.6237	848.1349	856.1116	839.595	85.9989
6	759.2741	757.984	935.651	969.286	871.5774	880.6592	862.3853	88.0171
7	773.2382	766.3957	946.037	978.6604	885.808	908.7499	876.4815	88.5265
8	784.4848	776.8688	954.5078	986.4225	899.4015	918.7613	886.7411	87.4557
24	792.7736	769.9747	893.012	1023.439	925.3403	957.1495	896.9482	92.4568
D	78.1261	86.9139	179.0133	59.2657	106.8298	16.4282	87.7629	54.1931
M	0	0	0	15.8202	0	0	2.6367	6.4585
A	-59.8579	-52.524	-42.951	-63.0359	-89.1614	-105.809	-68.8899	
B	222.929	227.9642	280.8188	298.8925	276.3571	267.4629	262.4041	
r	0.9914	0.9863	0.9817	0.9909	0.9912	0.9996	0.9922	
r^2	0.9829	0.9729	0.9637	0.982	0.9825	0.9993	0.9846	
J	324.2132	331.5361	408.4043	434.6896	401.9156	388.9805	381.6232	44.2804

IBUPROFENO

Tiempo (hrs).	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0,5	57 5442	52 7655	67.2411	55.7123	72 657	69 1327	62.5088	8 1857
1	85 8236	86.5453	110 5984	112 6592	113.8357	106 7737	102 706	13.0227
2	146.5669	149 5536	153.654	180 4563	190.0237	196.4004	169 4425	22.0896
3	209.2301	236 4623	226.3042	281.99	301.0271	259 646	252 4433	34.9035
4	334 5348	347.3794	299.0193	364 11	372.2323	374.0359	348.552	28 6481
5	431 0426	425.1205	374.7328	454 5132	450.6637	496 1482	438 7035	40.0707
6	547 2876	500 5536	454.9546	550.0719	509.8324	619.1664	530.3111	55.7807
7	698 1471	599.8324	573 8561	660 7748	580.5431	761 5436	645.7829	74.7107
8	839.1803	712 5215	669.6554	758 5901	621.5658	861.2853	743.7997	94.3778
24	2231 0874	1514.4175	1435.3722	1502.7826	1241.6498	1708 3672	1605.6128	341.2091
D	7356.4248	7733.469	12519.3982	10544.8141	11002.6194	8811.0796	9661.3009	2024.8613
M	725 7876	763.9115	863 0973	453 9823	757.2212	772 3539	722 7256	139.4889
A	-48 3541	-9.4882	6 6293	4.37759	50 8741	-19.7861	-2.6245	
B	103.6861	87 5651	78 6397	92 5884	75 4661	107.4577	90 9005	
r	0.9887	0.998	0.9934	0.9989	0.9951	0.9949	0.9978	
r^2	0.9775	0.996	0.987	0.9979	0.9903	0.99	0.9957	
J	150 7943	127 3489	114.3684	134 6545	109.753	156 2794	132.1996	18.8518

IB/SR-38

Tiempo (hrs)	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0,5	11 4823	1.7721	1 9845	4.1747	16 5398	2.8274	6 4834	6.1196
1	18.9955	13.6128	7.1415	11.9734	26 9668	7.0752	14.2942	7.5396
2	45.9026	42.9159	53 3561	36 8296	58.5398	36 4646	45.6681	8 8908
3	102 1393	91.3871	98 7676	65.2168	105 9623	85 3207	91 4657	14.8604
4	127.8451	116 8008	121.9579	100 8982	132.1924	106 6393	117 7223	12.1369
5	151 6725	134.9535	141 5508	125.1769	152 6415	124 1946	136.365	12.4693
6	170 7942	152 98	159 1393	139.0353	167.8207	142 2743	155 3407	13.0472
7	185 3694	173.2234	174.5376	158 8539	185 2699	160 646	172.9834	11.4777
8	208.8982	188.9402	198 5774	182 9469	206.2632	186	195.271	10.9121
24	499.3274	485.1991	438 3219	592.0387	470.23	457.2544	492.0619	54 1002
D	874.2477	580.2876	615.5309	712.4336	525	230 6415	589.6902	214.4275
M	88 2212	150 5309	255.6637	147 2123	21.5575	142 3274	134.2522	77 5343
A	2 8068	-2.1145	-1 1983	-7 6036	12 3982	-6 2396	-0 3251	
B	27.338	25 6333	26.515	24 4805	25 7702	24 8657	25.7671	
r	0.9856	0.986	0.9815	0.9953	0.9854	0.9887	0.9883	
r^2	0.9715	0.9722	0.9634	0.9906	0.971	0.9776	0.9768	
J	39 7586	37.2794	38.5617	35 6028	37.4784	36.163	37 474	1.5271

IB/AZONA

Tiempo (hrs).	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0,5	26 3898	9 273	6 8181	10 2061	1 6561	2 8331	9 5294	8 9328
1	26,3898	9,273	6 8181	40 5725	1 6561	2 8331	14 5904	15 5467
2	58,0676	33,519	77 6309	174 4973	45,6252	54 9318	74,0453	51 3306
3	123 7101	81 8345	200 2482	315 1309	166,3761	142,2225	171 587	80 825
4	197,6252	136,9429	346 1362	517,8761	275 1721	221 3668	282,5199	135 3758
5	298,838	202,8796	525,9973	710,853	405,0446	291 8433	405,926	186 102
6	386,196	256 088	687 1442	907 9225	514,4123	346 296	516,3432	243,3508
7	485 4752	315 0384	854 8654	1074,1977	640,5017	409 4331	629,9186	288,695
8	531 7646	380,0504	1027,7991	1235,5296	707,7415	480,0946	727,1633	337 3147
24	701,9076	546,0753	1216,9735	1514,3452	880,8737	652 9042	918 8466	374 6162
D	908,7046	772,9811	0	0	452 5453	0	355 7051	416,8655
M	269 7345	204,4424	56,4071	222 1769	128,3893	226 3185	184 5781	77,9578
A	-60,3747	-50,2952	-159,9984	-137 8791	-109 3691	-53,9323	-95,3081	
B	73,3651	51 4398	141,7381	170 6246	102,5344	66 7738	101 0793	
r	0,9882	0 9906	0 9896	0 9969	0 9925	0 997	0 9942	
r^2	0,9767	0,9814	0,9793	0 9939	0 9851	0,994	0,9885	
J	106 6974	74 8107	206 1346	248,1451	149,1193	97,1115	147,0031	67 9061

5-FLUOROURACILO

Tiempo (hrs).	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv. std.
0.5	10 2461	5.2747	13.5956	9.745	12.0923	12.3428	10.5494	2 9474
1	47.367	39.2835	62.8615	42.7252	46.8791	45.1516	47.378	8.15
2	163 1208	151.7736	167.4395	156.1846	160.6351	170 2714	161.5708	6.9053
3	238.0879	229 0648	263 6109	234.089	237.3428	243.3791	240.9291	12.0743
4	257.1659	248.8351	277 9417	266.1032	270 623	281.0901	266 9598	12.3194
5	341.8351	347 6373	369 4252	350 6439	347 8054	396.5373	358.9807	20.6718
6	468 2307	482.6868	492 1219	493 912	464 2219	570 7164	488.6483	23 9105
7	558.7648	567 3857	585 6626	590 6076	562.9945	625.4439	581 8098	24 8568
8	674 9241	692 7824	692.0307	716 8054	677.4923	747.7351	700.295	27.6099
24	813 9989	847.5725	827 9902	880 6351	820.523	904.5032	849.2021	36.2243
D	466 6153	921.1846	258 6	288 5076	207.1384	390.3692	422 0692	261.8631
M	39 5868	37.0813	22 0219	28.1934	43.5428	20.6769	31.8505	9.5785
A	-36.6261	-50.8674	-27.1684	-50.7264	-35.8446	-49.8406	-41.8456	
B	84.6404	88.2885	86.8275	90 8864	85.0051	95 9242	88 5954	
r	0.9919	0.9919	0.9939	0 9918	0.9937	0 9943	0 9932	
r^2	0 9839	0.9839	0 9878	0 9837	0 9876	0 9887	0.9865	
J	123 0597	128 3636	126 2395	132 1407	123.5899	139 4652	128 8098	6 1927

5FU/SR-38

Tiempo (hrs).	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv. std.
0.5	24.974	23 6026	25 4593	22 6953	42 2118	38.836	29.6298	8.562
1	60 1037	64 5345	66 6769	79 5358	69 0848	77 8057	69 9569	7.5132
2	123 0487	122 2611	170.6057	138 1063	121.5789	128.4712	134.012	18 9706
3	186 0149	164.4026	228 2268	184.8896	169 0092	175 5991	184 6904	22 9667
4	232 1371	194 0254	279 7573	219 9349	203.0558	213 5419	223 7421	30 4556
5	274 138	218.1485	309.4786	242.9468	223.578	241.2096	251.5832	34.4817
6	314.8941	244 6206	338.3068	285 3837	262.4773	267 2386	285 4868	35.1773
7	339 1789	269.5736	366 1503	311.5604	287.149	290.8342	310.7411	36.1308
8	352.1969	284.8	387.4531	326 8149	304.9142	305 4909	326.945	37 4719
24	372.5292	316.3147	434.5951	354 3701	334.9591	345.9375	359.7843	41.1971
D	24 6593	29 0901	114 5934	143 8681	61 6879	66.989	73.4613	47 2861
M	166.2065	15 323	42.3824	235.4637	51.3758	37.2659	91.3362	88.4004
A	29.7514	40.4572	50.4847	44.3649	44 9761	51 0011	43.5059	
B	44.902	33.4754	47.1165	38.7009	35.0212	35.0689	39 0475	
r	0.9829	0 9764	0 9649	0 9779	0.9876	0 9801	0.9791	
r^2	0.9661	0 9535	0.9311	0 9563	0 9753	0 9605	0 9588	
J	65.2835	48 6703	68.5032	56.2677	50.9177	50.9871	56.7716	8 2909

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

5FU/AZONA

Tiempo (hrs).	A	B	C	D	E	F	Prom.	Desv.std.
0.5	6.0004	15.229	2 7498	47 1217	70 9441	0	23.034	29.5308
1	63 1054	290 8158	108 8345	368 9186	372.4606	131.8751	222.685	137 9203
2	256 3898	663 0373	393 309	756 2048	810.5898	461.4734	556.834	219.782
3	480.236	906 9789	630 6413	1010.3371	1024.7437	675.6272	788.094	224.3859
4	640.843	1121.5375	803.6751	1172.1771	1187 1292	882.0109	967.8955	225.7024
5	784.4202	1283.0039	939 5107	1334.2712	1329.3389	1044.8597	1119.2341	231.144
6	889.7903	1390.6681	1026.6628	1407 0013	1423.1116	1158.8606	1216 0158	226 0141
7	960 1142	1449 4769	1082.8171	1477 781	1505.6008	1219.418	1282.5013	229 6323
8	1009.956	1498 9226	1127.4074	1538.3907	1566.2795	1248.0378	1329 8323	233.8176
24	1124 3305	1636 701	1262.8096	1694.8131	1693.2808	1329.1147	1456.8416	248.7607
D	29.5516	70 378	44.0307	80.5846	38.2945	63 4153	54 3758	20.0327
M	50 9274	160.5626	-9.5472	353.1428	18 989	0 6857	95.7934	140.3408
A	-11.2808	180 7969	55 0421	259 7795	281 6348	61.2467	137.8699	
B	142.257	191 5752	153 9761	185.5941	184.8078	171.7013	171 6519	
r	0.9818	0 9518	0.9639	0.9404	0.9401	0.9653	0.9586	
r ²	0.9639	0 906	0.9292	0.8844	0.8839	0 9319	0 919	
J	206.8291	278 5334	223.8675	269 8374	268 6941	249.6385	249.5667	28.6453