

R. 6476

T 292

DEPARTAMENTO DE FARMACIA GALENICA  
FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

"APORTACION AL ESTUDIO ACTUALIZADO DE LA INFLUENCIA  
DE LOS EXCIPIENTES SOBRE LA BIODISPONIBILIDAD DE LOS  
PREPARADOS FARMACEUTICOS DE USO TOPICO"

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA  
BIBLIOTECA

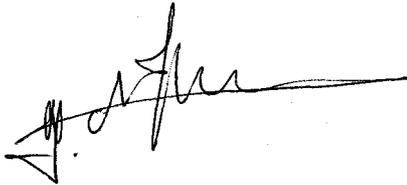
Memoria presentada por la Licenciada  
M<sup>º</sup> Josefa León Wasmer para optar al  
Grado de Doctor en Farmacia  
Sevilla, Septiembre 1983

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

Memoria presentada por la Licenciada  
M<sup>ª</sup> Josefa León Wasmer, para optar al  
Grado de Doctor en Farmacia

Fdo.: M<sup>ª</sup> Josefa León

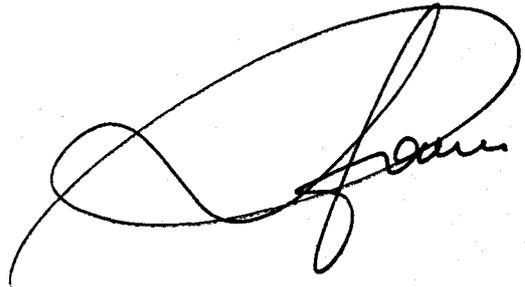


V<sup>º</sup> B<sup>º</sup>

Los Directores de la Tesis



Fdo.: Catalina Buenestado,  
Profesor Adjunto Interino  
de Farmacia Galénica



Fdo.: Claudio Faulf,  
Catedrático de Farmacia  
Galénica de la Universid  
dad de Sevilla

CLAUDIO FAULI TRILLO, Catedrático Director del Departamento de Farmacia Galénica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla,

CERTIFICA: Que la Tesis Doctoral elaborada por la Licenciada en Farmacia, Dña. M<sup>ª</sup> Josefa León Wasmer, ha sido codirigida por Dña. Catalina Buenestado Romero y el Catedrático que suscribe, y tiene el honor de elevar a la consideración de la Facultad de Farmacia la presente Memoria a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

La elaboración ha sido realizada en el Departamento de Farmacia Galénica y se han obtenido unas conclusiones positivas que se someten al criterio de dicha Facultad.

Sevilla, 9 de Septiembre de 1983



A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read "Fauli Trillo".

Fdo.: Prof. Dr. C. Fauli Trillo

A mi marido, padres y hermanos.

A vosotros mis hijos

A todos los intelectuales que traba  
jan con entusiasmo sin perseguir la  
gloria y aún vibran de emoción ante  
el descubrimiento.

Deseo dejar patente mi más sincera gratitud:

- Al Prof. C. Faulí Trillo, verdadero motor y catalizador de este trabajo, que me inculcó la disciplina en la labor de investigación.
- A la Dra. C. Buenestado Romero, por el estímulo y apoyo prestados.
- A mis compañeros de Departamento por la estimable ayuda que me brindaron en todo momento.
- Al Dr. A. García Asuero, por el asesoramiento técnico - en algunos aspectos experimentales.
- A las cátedras de Farmacognosia y Farmacodinamia, Fisiología animal y Microbiología, de esta Facultad, por su desinteresada colaboración en la realización de este trabajo.
- A todos los que de una forma u otra me asesoraron durante su elaboración.

# **INDICE**

INTRODUCCION .....	1
OBJETIVOS .....	6
PARTE GENERAL .....	10
I ESTRUCTURA GENERAL DE LA PIEL .....	14
I.1 <u>Epidermis</u> .....	16
I.2 <u>Dermis</u> .....	22
I.3 <u>Tejido subcutáneo</u> .....	23
I.4 <u>Anejos de la piel con significación</u> <u>en los procesos de penetración cutánea</u> .....	24
II LOS EXCIPIENTES EN LA FORMULACION DE POMADAS .....	29
III PENETRACION PERCUTANEA .....	37
III.1 <u>Localización de la barrera</u> .....	39
III.2 <u>Vías de transferencia cutánea</u> .....	41
III.3 <u>Retención de fármacos en las</u> <u>estructuras cutáneas</u> .....	44
III.4 <u>Aplicación de las leyes de la difusión</u> <u>a los fenómenos de transferencia</u> .....	46
III.5 <u>Factores con influencia en los</u> <u>fenómenos de transferencia</u> .....	52
III.5.1 <u>Factores biológicos</u> .....	52
III.5.2 <u>Factores fisicoquímicos</u> .....	55
IV METODOS PARA LA EVALUACION DE LA TRANS <u>FERENCIA Y ABSORCION PERCUTANEAS</u> .....	62
IV.1 <u>Métodos "in vitro"</u> .....	64
IV.1.1 <u>Modelos para el estudio de la</u> <u>liberación medicamentosa</u> .....	67

IV.1.2 <u>Métodos para el estudio de la</u> <u>difusión medicamentosa</u> .....	69
IV.2 <u>Métodos "in vivo"</u> .....	72
PARTE EXPERIMENTAL: MATERIAL, METODO Y TECNICAS .....	77
I PRINCIPIOS ACTIVOS .....	79
I.1 <u>Fentiazac ácido</u> .....	80
I.2 <u>Monosalicilato de Etilenglicol</u> .....	82
II PREPARADOS TOPICOS	
II.1 <u>Excipientes utilizados</u> .....	85
II.1.1 <u>Fórmulas y técnicas preparatorias</u>	
II.1.1.1 <u>Emulsión oleoacuosa</u> .....	86
II.1.1.2 <u>Excipiente anhidro-hidrosoluble</u> .....	86
II.1.1.3 <u>Gel acuoso</u> .....	87
II.2 <u>Incorporación de las sustancias activas</u> .....	87
II.3 <u>Ensayos de dosificación</u> .....	88
II.3.1 <u>Pomadas de Monosalicilato de Etilenglicol</u> ....	88
II.3.1 <u>Pomadas de Fentiazac ácido</u> .....	89
III ENSAYOS "IN VITRO" .....	90
III.1 <u>Estudio de la liberación medicamentosa</u>	
III.1.1 <u>Material</u> .....	92
III.1.1.1 <u>Soporte de difusión</u> .....	92
III.1.1.1.1 <u>M.S.E.G.</u> .....	94
III.1.1.1.2 <u>Fentiazac ácido</u> .....	94
III.1.2 <u>Método</u> .....	95
III.1.3 <u>Técnica</u> .....	96

III.2 <u>Estudio de la difusión a través</u> <u>de membrana biológica</u>	
III.2.1 <u>Material</u> .....	96
III.2.1.1 <u>Célula de difusión</u> .....	97
III.2.2 <u>Método</u> .....	97
III.2.3 <u>Técnicas de valoración</u>	
III.2.3.1 <u>M.S.E.G.</u> .....	100
III.2.3.2 <u>Fentiazac ácido</u> .....	100
III.2.3.2.1 <u>Pruebas de validación</u> <u>del método</u> .....	101
III.2.4 <u>Pruebas estadísticas</u>	
III.2.4.1 <u>Análisis de la varianza</u> .....	103
III.2.4.2 <u>Prueba de SCHEFFE</u> .....	104
III.2.4.3 <u>Determinación de la significación</u> <u>entre dos medias en muestras pequeñas</u> .....	104
IV ENSAYOS BIOFARMACEUTICOS .....	105
IV.1 <u>Material</u> .....	106
IV.2 <u>Método</u> .....	107
IV.3 <u>Técnicas de valoración</u>	
IV.3.1 <u>Monosalicilato de Etilenglicol</u> .....	109
IV.3.2 <u>Fentiazac ácido</u> .....	110
IV.3.2.1 <u>Pruebas de validación del método</u> .....	112
V ESTUDIO DE EXTENSIBILIDAD .....	115
V.1 <u>Material</u> .....	116
V.2 <u>Método</u> .....	117
V.3 <u>Técnica de medida</u> .....	118

V.4 <u>Pruebas estadísticas</u> .....	119
---------------------------------------	-----

## RESULTADOS

### I ESTUDIOS "IN VITRO"

I.1 <u>Ensayos de liberación medicamentosa</u> .....	122
I.1.1 <u>Fentiazac ácido</u> .....	123
I.1.2 <u>Monosalicilato de Etilenglicol</u> .....	124
I.2 <u>Ensayos de difusión a través de</u> <u>membrana biológica</u> .....	125
I.2.1 <u>Fentiazac ácido</u>	
I.2.1.1 <u>Resultados de la validación del</u> <u>método espectrofotométrico</u> .....	126
I.2.1.1.1 <u>Parámetros estadísticos</u> .....	127
I.2.1.2 <u>Resultados cuantitativos de</u> <u>difusión</u> .....	131
I.2.1.3 <u>Pruebas estadísticas</u> .....	136
I.2.2 <u>Monosalicilato de Etilenglicol</u>	
I.2.2.1 <u>Establecimiento de la curva patrón</u> .....	139
I.2.2.2 <u>Resultados cuantitativos de difusión</u> .....	140
I.2.2.3 <u>Pruebas estadísticas</u> .....	145
I.2.3 <u>Comparación entre la difusión de Fentiazac</u> <u>y M.S.E.G. en función de excipientes homologos</u> .....	148

### II ESTUDIOS BIOFARMACEUTICOS

II.1 <u>Fentiazac ácido</u>	
II.1.1 <u>Validación del método espectro</u> <u>fotométrico</u> .....	150

II.1.2 <u>Resultados cuantitativos</u> <u>de excreción urinaria</u> .....	153
II.1.3 <u>Ecuaciones de las curvas de</u> <u>excreción acumulativa</u> .....	158
II.2 <u>Monosalicilato de Etilenglicol</u>	
II.2.1 <u>Establecimiento de la curva patrón</u> .....	159
II.2.2 <u>Resultados cuantitativos</u> <u>de excreción urinaria</u> .....	159
II.2.3 <u>Ecuaciones de las curvas de</u> <u>excreción acumulativa</u> .....	164
III ESTUDIO DE LA EXTENSIBILIDAD	
III. 1 <u>Extensibilidad de los excipientes</u> .....	166
III.1.1 <u>Pruebas estadísticas</u> .....	167
III.2 <u>Extensibilidad de las pomadas</u>	
III.2.1 <u>Pomadas de Fentiazac ácido</u> .....	168
III.2.1.1 <u>Pruebas estadísticas</u> .....	169
III.2.2 <u>Pomadas de M.S.E.G.</u> .....	170
III.2.2.1 <u>Pruebas estadísticas</u> .....	171
III.3 <u>Comparación de resultados entre pomadas</u> <u>y excipientes, y de pomadas entre sí</u> .....	172
III.4 <u>Relación extensibilidad/pesos</u> .....	175
RESUMEN .....	176
DISCUSION .....	184
CONCLUSIONES .....	220

APENDICE .....	225
BIBLIOGRAFIA .....	227

# **INTRODUCCION**

Durante muchos años la formulación para uso tópico ha sido el resultado de la selección cuantitativa y cualitativa de los componentes de un preparado medicamentoso, - al que fundamentalmente se le exigía estabilidad y homogeneidad, pues eran muy contradictorios los criterios de penetración de sustancias activas a través de la piel.

Sin embargo con la introducción de los esteroides - como agentes antiinflamatorios, se produce una revolución en el tratamiento de diversas afecciones patológicas, incluso con independencia de la vía de administración. La - utilización de los esteroides en preparados tópicos se inicia en 1952, a la vez que con ello se marca el principio - de la evolución de la terapéutica de las enfermedades cutáneas, pues desde entonces se ha venido investigando en la-

obtención de principios activos cada vez más potentes que, por regla general, son acompañados de trastornos secundarios al fin terapéutico conseguido.

Por otro lado debido a que la absorción percutánea de los componentes activos es muy escasa, debido a la "barrera" que representan las estructuras cutáneas frente al tránsito de la mayoría de sustancias exógenas al organismo se ha potenciado los estudios biogalénicos de la formulación. Es por ésto que las investigaciones en este campo se hayan orientado hacia la búsqueda de las bases más apropiadas de cada sustancia activa, máxime cuando su actividad farmacológica va a estar relacionada, por lo general, con una mayor absorción en el sistema vascular dérmico.

Ambos conceptos quedan ligados en pieles intactas, al mayor o menor poder de los vehículos para reducir al máximo la barrera interfacial que la epidermis constituye en la penetración percutánea -es decir modificando la permeabilidad de la piel para estos compuestos- o bien consiguiendo una mayor distribución, en el estrato córneo, de la sustancia medicamentosa, que se pretende su penetración.

Por tanto aunque los requerimientos antes apuntados -homogeneidad, estabilidad,...- en una forma de dosificación sean necesarios, no son suficientes, pues los excipientes tópicos deben inducir además a una mayor biodispo-

nibilidad de los principios activos, emanada de su interacción con el fármaco o estructuras epidérmicas. Se justifica, pues, en uno y otro aspecto, la influencia de la adecuada composición del vehículo sobre los fenómenos de transferencia cutánea que a su vez conduce a considerar a éstos como parte importante del medicamento tópico y no solo como meros soportes de los componentes activos.

Si con la introducción de los compuestos esteroideos como agentes antiinflamatorios se marcó la evolución en la terapéutica tópica (investigación de nuevos esteroideos y adecuación de sus vehículos), con la manifestación clínica de sus efectos secundarios coincidentes unas veces con los de una corticoterapia sistémica (inhibición del sistema inmune o del metabolismo y absorción de la vitamina D<sub>3</sub>, enlentecen los procesos de cicatrización por inhibir la actividad de los fibroblastos, causan osteoporosis y retención tisular de agua y sal, etc.), y otras propias de una administración tópica (atrofia muscular, hirsutismo, favorecimiento de infecciones, etc.) se ha desencadenado la búsqueda de alternativas a los tratamientos esteroideos, en aquellas afecciones en las que no estén especialmente indicados, con la obtención de otros fármacos que, merced a una composición química no esteroidea, aporten propiedades antiinflamatorias sin verse seguidas de efectos secundarios tan acusados.

Todo esto unido a la correcta formulación de las po madas hace que se establezcan de antemano las formas de do sificación, específicas de cada fármaco, en función de las exigencias cinéticas de difusión o biofarmacéuticas de ab sorción.

En tal búsqueda concurren tanto los ensayos "in vi tro" como los "in vivo", determinándose en cada caso la me todología a seguir, dentro de las muchas posibilidades que ofrecen ambos campos en relación, bien al mayor acercamien to con las condiciones fisiológicas, o bien para la deduc ción de los parámetros más significativos de la mayor o me nor biodisponibilidad de la sustancia medicamentosa.

## **OBJETIVOS**

La absorción percutánea de sustancias activas tiene lugar previa difusión de las mismas a través de las estructuras epidérmicas y las glandulares que constituyen sus anejos, interviniendo en tales procesos varios factores de distinto signo siendo unos fisicoquímicos -como la constante de difusión de las moléculas activas en las membranas cutáneas, coeficiente de reparto de la sustancia que difunde entre capa córnea y medio exterior, concentración del principio activo...- otros fisiológicos... o bien por las propias características del excipiente como es el empleo o no de humectantes, adición de agentes tensioactivos concretos, empleo de disolventes específicos del principio activo, etc.

En general, en la literatura los estudios realiza -

dos en este campo, con frecuencia, se centran en el aspecto individual de cada uno de los factores antes señalados, adoleciendo de la falta de clara conexión de unos con los otros, pues si bien quedan recogidos en revisiones bibliográficas éstas se realizan a partir unas veces de materiales distintos -principios activos y excipientes- con la consiguiente ausencia en la correlación de resultados, - - mientras que en otras ocasiones se efectúan según metodología distinta, conduciendo ésto de igual forma a conclusiones generalmente no concordantes e, incluso a veces, erróneas.

Por ello el objetivo principal de nuestro estudio - lo constituirá la búsqueda de la interdependencia vehículo -principio activo que desde distintos ángulos contemple lo antes mencionado, es decir partiendo de unos mismos preparados tópicos realizar ensayos de liberación y difusión medicamentosa -por procedimientos "in vitro"- así como bio -farmacéuticos mediante pruebas "in vivo". Con unos y otros pretendemos encontrar la influencia del vehículo sobre la biodisponibilidad del principio activo, a la vez que dilucidar el comportamiento de distintas sustancias activas - formuladas en excipientes homólogos.

Al mismo tiempo pretendemos incluso cotejar los datos extraídos por distintos métodos -in vitro y/o in vivo- con las consiguientes ventajas que comportarían por ejemplo en la comprobación de los "equivalentes galénicos" pa-

ra distintas pomadas sea cual sea su procedencia -del mercado o formuladas por nosotros- ya que se simplificaría su realización por empleo de procedimientos "in vitro", siempre y cuando sus resultados se superpusieran con los obtenidos "in vivo".

Hemos apuntado anteriormente la notable tendencia reinante en la actualidad en encontrar el excipiente más idóneo para cada principio activo; pues bien, partiendo de esta premisa realizaremos de forma paralela pruebas de extensibilidad, por métodos planimétricos, de los distintos preparados así como de sus respectivos vehículos, por entender que esta característica galénica es una de las que más los cualifica; pretendiendo al mismo tiempo establecer la posible correlación entre las diferencias encontradas de esta propiedad y la distinta biodisponibilidad de las sustancias activas a partir de los preparados estudiados.

## **PARTE GENERAL**

Un tema común de la farmacotecnia y dermatología es el estudio de la piel como un todo, pues representa un papel activo en cuanto a la acción terapéutica de los fármacos. Por tanto, su estudio debe centrarse tanto desde un punto de vista morfológico como fisicoquímico.

Consta la piel de varias capas de estructura y función distintas; se podría considerar como la barrera que limita la pérdida de agua del organismo a la vez que regula la entrada en el mismo de diversas sustancias químicas, comportándose como una cubierta constante, selectivamente permeable, presentando variaciones en su capacidad de absorción según la región corporal considerada, merced al sistema de caminos o rutas de penetración que ofrece.

Los conceptos actuales de penetración y/o absorción

percutánea derivan a la vez de las observaciones clínicas e investigadoras, en cuyos aspectos incide de forma muy directa y significativa el estrato córneo como barrera a la vez que ésta, junto con los conductos sudoríparos y pilosebáceos, influye en la transferencia de sustancias a través de la piel.

La literatura más clásica muestra la gran importancia que se le atribuían a los folículos pilosebáceos y glándulas sudoríparas como vías de penetración percutánea. Sin embargo, los estudios más recientes indican como la más importante al estrato córneo -vía epidérmica- quedando las demás con una dinámica secundaria ante los fenómenos de absorción. Se ha comprobado que la tasa de difusión de una sustancia a través de los anejos cutáneos supera a los obtenidos a través de la capa córnea en un período de tiempo inicial de unos 5 minutos tras la aplicación tópica. Luego, la mayor parte de la penetración transcurre por vía epidérmica, la cual representa mayor superficie que las otras vías de transferencia.

Al pretender investigar el distinto comportamiento de productos medicamentosos cuando se aplican sobre la piel es de interés para el farmacéutico el conocimiento de la estructura cutánea, sobre todo la epidérmica, ya que por ella la piel actúa como barrera natural a la transferencia medicamentosa destinada a la dermis. Además, en la epidermis transcurren fenómenos característicos de difusión de los

que tampoco se debe escapar, pues tanto estos aspectos como los mórfológicos inciden en la correcta formulación del excipiente y en la precisa concentración del principio activo de toda medicacion tópica.

**ESTRUCTURA DE LA  
PIEL**

## I ESTRUCTURA GENERAL DE LA PIEL

La piel está formada por dos capas de tejidos diferentes tanto por su estructura como por su origen embriológico, estando ambas firmemente unidas.

De ellas, la más externa es la epidermis, que se encuentra formada por epitelio plano estratificado y queratinizado, proveniente del ectodermo embrionario; mientras que la más interna es la dermis, que procede del mesodermo, -- constituida por tejido conjuntivo de disposición irregular y contiene vasos sanguíneos.

Ambas capas se apoyan una en la otra y, a su vez, -- el conjunto sobre otra --hipodermis-- de tejido subcutáneo -- variable (laxo, adiposo,...) mediante haces irregularmente

repartidos de fibras colágenas dérmicas, las cuales se infiltran en dicho tejido, para dar de ésta forma fijeza a la piel a la vez que le proporcionan la capacidad de movimiento (1). La unión dermo-epidérmica es tan estrecha que la epidermis al carecer de vasos sanguíneos se nutre del líquido tisular de los capilares dérmicos. (2) (Fig. 1)

Durante el desarrollo embrionario las células ectodérmicas penetran en la dermis para originar las glándulas sudoríparas y sebáceas, folículos pilosos, surcos ungueales y uñas que constituyen los anejos de la piel o faneras (3).

### I.1 Epidermis

Sus capas más externas se encuentran cornificadas y dependiendo de las zonas corporales su grosor varía.

Se le suele describir como formada por diferentes estratos (4) :

Germinativo	}	Cuerpo mucoso de Malpighio (epidermis viva) (3)
Espinoso		
Granuloso		
Lúcido		
Córneo		

La consideración de estas cinco capas como integran

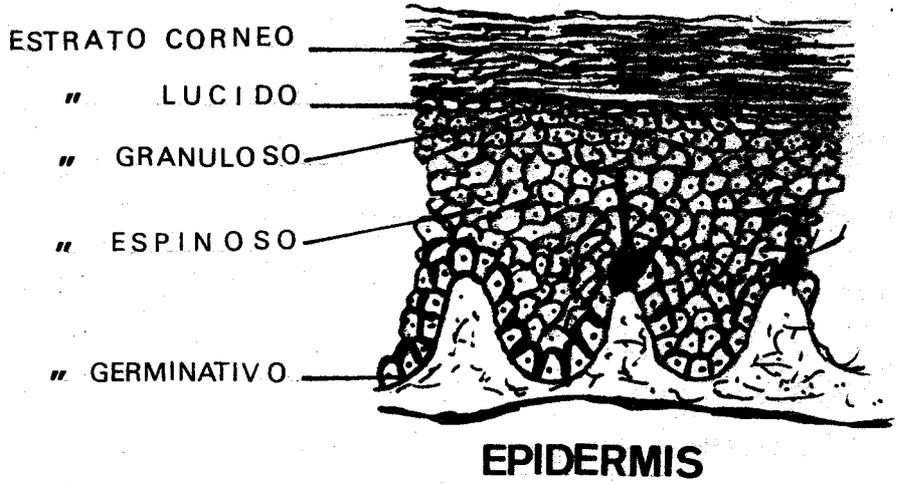
tes de la epidermis no es general, ya que al no detectarse el estrato lúcido en las llamadas pieles delgadas (5), algunos autores no mencionan su existencia (6), si bien la mayoría de la literatura científica lo consideran como integrante de lo que denominan "estratum corneum conjunctum".  
(7)

El estrato germinativo o basal está formado por una sola capa de células casi cilíndricas que asientan sobre la unión dermo-epidérmica; notándose además la existencia de melanocitos con función de síntesis melánica.

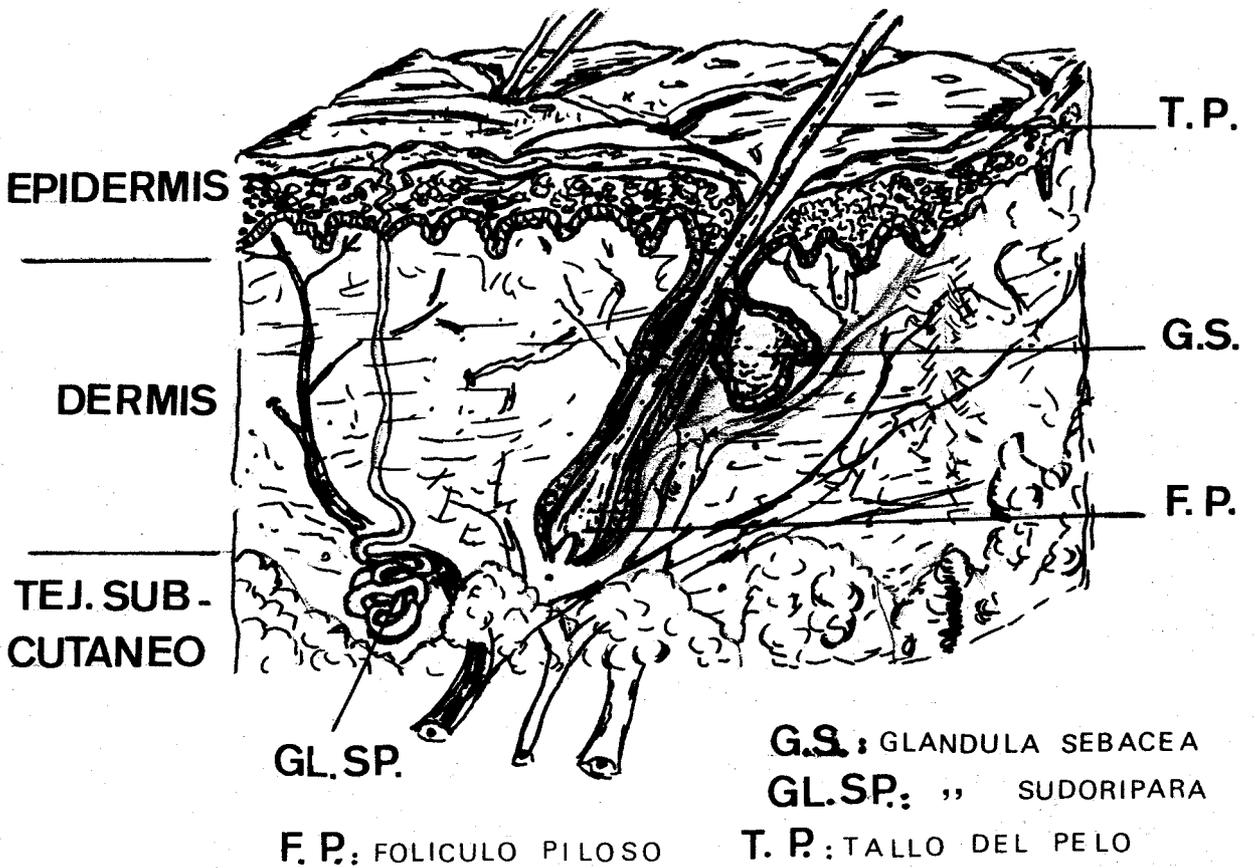
Al microscopio electrónico se observa en la base de este estrato una membrana fina y amorfa en donde existen hemidesmosomas siendo éstos diferenciaciones de la membrana plasmática basal donde se insertan microfilamentos, constituyendo zonas de refuerzo entre el epitelio y el tejido conjuntivo subyacente (3,8).

A nivel de éste estrato son frecuentes las mitosis celulares, de ahí su nombre, siendo la generatriz de toda la epidermis. Posee al mismo tiempo un alto contenido de ribosomas libres con gran cantidad de material fibrilar que constituirán las fibras queratínicas, fenómeno que demuestra el hecho de que la mayor parte de las proteínas epidérmicas se sintetizan en el citoplasma de las células de este estrato (9).

# FIG.1



## ESTRUCTURA DE LA PIEL



El estrato espinoso lo forman de 2 a 6 capas de células cuboidales que se aplanan a medida que se acercan a la superficie. En cortes histológicos de piel estas células que tienen su origen en la basal, muestran bastantes condensaciones, las cuales dan lugar a haces de microfibrillas de dimensiones suficientes para poder ser vistas al microscopio óptico (10). A nivel de este estrato dichas estructuras se presentan a modo de proyecciones citoplasmáticas que se extienden entre células adyacentes pudiendo estar unidas a desmosomas, siendo éstas formaciones zonas especializadas de contacto por adherencia entre células vecinas que se localizan en las membranas plasmáticas. En virtud de estas uniones, las células poseen un sistema de interrelación directo y mecánico para ejercer diversas funciones además de conformar un armazón capaz de resistir tensiones, aunque no sean contráctiles. Estas pequeñas proyecciones citoplasmáticas con desmosomas explican el aspecto espinoso que adquieren las células de esta capa y del que toman la denominación.

A nivel de este estrato y del germinativo existe un número escaso de células llamadas de LANGERHANS (6) metabólicamente activas, pues contienen enzimas hidrolíticos, pero cuya función no es bien conocida.

El estrato granuloso se encuentra por encima del espinoso, formándose por la migración de sus células. En el tránsito hacia la superficie éstas se van aplanando de tal

forma que las más superficiales adquieren forma rómbica, - agrupándose en una o tres capas. En su citoplasma se acumulan gránulos de queratohialina que al microscopio electrónico aparecen íntimamente mezclados con el material fibrilar de las células, siendo esta característica celular la que da nombre al estrato. En la piel gruesa, a diferencia con la fina, los estratos espinoso y granuloso se encuentran más desarrollados.

A nivel de esta capa es donde comienzan a morir las células epidérmicas mediante un proceso de queratinización al ir desapareciendo sus núcleos y quedar prácticamente — llenas de gránulos de queratohialina (3). Sin embargo, las células de esta capa aún conservan actividad, como lo demuestran los estudios autorradiográficos que detectan la — incorporación de RNA y precursores proteínicos, indicativos ambos de una cierta función en estos sistemas bioquímicos. Además, al microscopio electrónico los gránulos de queratohialina se muestran estrechamente relacionados con los filamentos, ocupando a su vez los sitios donde no existen estructuras proteicas. Los gránulos que se van formando se rodean de gran cantidad de ribosomas, hallazgo que se relaciona con el hecho de que ciertos aminoácidos, histidina y glicina, sean incorporados en las estructuras proteicas a este nivel epidérmico (11).

El estrato lúcido no es siempre fácilmente visible — observándose mejor en las pieles gruesas. Se ubica por en-

cima del estrato granuloso, apareciendo al microscopio ordinario como una línea blanca y homogénea. Lo forman una sola capa de células hialinas, anucleadas, que contienen gotas de eledina, admitiéndose en la actualidad que esta sustancia oleosa procede de la ruptura de lisosomas (10), ya que a éste nivel epidérmico existe actividad fosfatasa-ácida típica de los mismos.

En las últimas capas del estrato granuloso, ya en contacto con el lúcido, ocurren cambios morfológicos drásticos a nivel de desmosomas y membranas plasmáticas, ya que éstas se hacen cada vez más gruesas y visibles debido al acoplamiento sobre su superficie de un material cuyo origen no está completamente establecido, si bien algunos autores (12) sugieren que está originado por gránulos lamellares de ODLAND-MATOLTSY. El contenido de estas inclusiones es expulsado por las células epidérmicas a la unión entre el estrato granuloso y córneo, estando especialmente relacionados con la formación de la sustancia cemento entre ambos. Tiene gran importancia fisiológica por ejercer, a la vez, función barrera y de protección (13). Los corpúsculos de ODLAND presentan actividad fosfatasa ácida y aunque su función no es clara, pueden ser lugares de síntesis o almacenamiento de colesterol (14), pudiéndose suponer que se sintetice la vitamina  $D_3$  en su interior por la acción de radiaciones ultravioletas (UV) sobre el colesterol, siendo liberada junto con los corpúsculos de ODLAND.

Tanto este estrato como el granuloso son ricos en compuestos de azufre y es en donde tienen lugar las reacciones que conducen a la síntesis de queratina.

El estrato córneo posee un espesor de 10-15 micras. Lo forman varias capas de células aplanadas y queratinizadas las cuales se renuevan y reemplazan constantemente por la cornificación de las células en movimiento ascendente desde las capas más inferiores. Este estrato, por su resistencia proporciona el mecanismo de protección característico de la piel.

En cortes histológicos se observan en este estrato la pérdida de orgánulos celulares, como es la ausencia de núcleo o restos nucleares. Sus células son aplanadas, puesto que si su espesor es aproximadamente menos de la mitad que el de la epidermis viva, el número de células de esta capa es semejante al de aquella.

Criterios histoquímicos, bioquímicos y autorradiográficos explican el que este estrato sea incapaz de desarrollar actividades metabólicas propias de las células vivas (15), por ello se le considera como un producto final no vivo de la diferenciación celular epidérmica.

Muchos de los productos del metabolismo epidérmico como bases púricas y pirimidínicas ó ácidos nucleicos son reabsorbidos dentro de tejidos - reserva, mientras otros,-

como el ácido urocánico, son cedidos al medio exterior en cantidades significativas (11). El estrato córneo presenta deficiencias en muchos de los enzimas propios de la epidermis subyacente, desconociéndose en la actualidad si son — destruidos por procesos hidrolíticos o simplemente reabsorbidos dentro de los tejidos

## I.2 Dermis

En términos generales puede decirse que la dermis o "corium", se sitúa entre la epidermis y el tejido subcutáneo hipodérmico y está formada por un entramado de fibras (colágenas, elásticas y reticulares) que encierran a una sustancia amorfa y viscosa cuya característica principal es su poder de hidratación derivado de los compuestos mucopolisacarídicos que contiene —ácido hialurónico y condroitinsulfúrico— y a la que se denomina sustancia fundamental.

Histológicamente en la dermis se distinguen dos zonas: el estrato capilar o porción superior, de aspecto ondulado por existir en él papilas dérmicas y otra más densa y profunda denominada estrato reticular. Uno y otro están constituidos por tejido conjuntivo denso en el que quedan embebidos vasos sanguíneos y linfáticos, junto con fibras musculares y nerviosas. Además, la dermis proporciona el soporte mecánico tanto de las estructuras epidérmicas como de los anejos cutáneos presentes en todo su espesor, es de

cir, folículos pilosos, glándulas sudoríparas y sebáceas.

El mayor constituyente de la dermis es el colágeno-fibroproteínas formada por fibroblastos dérmicos- siendo estas células extraordinariamente activas ya que además de ser el elemento formador de las fibroproteínas cumple otras funciones como la metabolización del colesterol y esteroides, interviniendo asimismo en procesos cicatriziales y de resistencia frente a la infección.

Las fibras elásticas, por su parte, proporcionan a la piel sus características de elasticidad y firmeza. Son escleroproteínas albuminoides que contienen cadenas de carbohidratos y cuya característica fundamental es su extensibilidad.

### I.3 Tejido subcutáneo (Hipodermis)

Está constituido por tejido conjuntivo laxo, fibras colágenas y elásticas que desde la dermis fijan la piel a las fascias musculares y periostio, elementos celulares — dérmicos — fibroblastos y algunos linfocitos—, existiendo — también una proporción variable de tejido adiposo, cuyas — células conjuntivas — de fina membrana, núcleo excéntrico y reducido protoplasma— están ocupadas de grasa.

El sistema formado por el tejido subcutáneo contie-

ne además folículos pilosos y glándulas sudoríparas ya que ambos anejos se forman por la invaginación de las estructuras epidérmicas dentro de este tejido. Al mismo tiempo en esta región se encuentran la mayor parte de los vasos sanguíneos que nutren la piel.

En su totalidad este sistema constituye el "pániculo adiposo", en donde se almacena la mayor parte de la grasa corporal y al que se debe tanto la protección física como el aislamiento térmico del organismo.

#### I.4 Anejos de la piel con significación en los procesos de penetración cutánea. (Fig. 1)

El pelo es el más patente de los anejos cutáneos — desde un punto de vista macromorfológico.

Lo constituyen una serie de estructuras inertes — compuestas por células queratinizadas, cuyo origen deriva de las invaginaciones epidérmicas dentro de la dermis y tejido subcutáneo, que determinan a su vez la formación del folículo piloso.

La zona más profunda de esta invaginación epidérmica se denomina matriz germinal del folículo, desde donde — se origina el crecimiento del tallo piloso por diferenciación de sus células superiores, que en su ascenso aumentan

de volumen haciéndose fusiformes.

El folículo piloso se rodea de una estructura denominada vaina radicular externa que en la proximidad de la superficie cutánea presenta las cuatro capas epidérmicas, - mientras que en zonas más profundas muestra menos grosor - por faltarle alguno de estos estratos y ya en su base, al fusionarse con la matriz folicular, está constituida tan sólo por estrato germinativo.

Las células proliferantes de la matriz originan, de igual modo, otra estructura tubular de crecimiento ascendente, conocida como vaina radicular interna, que separa el pelo de vaina radicular externa.

Durante la formación del folículo piloso se produce la migración de algunas de sus células -las correspondientes a uno de los lados del tramo dérmico conocido como cuello del folículo- para formar las glándulas sebáceas por introducirse aquéllas dentro de la dermis circundante. Estas se sitúan entre el tallo piloso y el músculo erector - del mismo, el cual en su contracción ayuda al vaciamiento de su secreción que generalmente se produce en el canal piloso originándose de esta forma la "entidad pilosebácea". Sin embargo, estas glándulas existen también de forma aislada en zonas corporales como mamila, párpados, orificios nasales, región anal, genitales (16), área medio-torácica y facial, mentón y cuero cabelludo (17).

Las glándulas sebáceas forman estructuras arracimadas simples, constituidas por lóbulos en torno a los que existe una capa de células cúbicas semejantes a las del estrato germinativo epidérmico. Las células constituyentes de estas glándulas están llenas de ácidos grasos que se consideran como productos de su función celular. Al producirse la secreción glandular se elimina todo el contenido celular, de aquí el carácter holocrino de éstas (16), (17).

Las glándulas sudoríparas se encuentran diseminadas y en número elevado por toda la superficie corporal. Se distinguen dos tipos diferentes de ellas, tanto por su estructura como por su función, unas pequeñas denominadas glándulas sudoríparas ecrinas y otras de tamaño mayor conocidas como apocrinas. Las primeras, más importantes y numerosas que las apocrinas, son las responsables de la regulación térmica. Su estructura tubular deriva de una invaginación epidérmica y está constituida por un túbulo secretor en espiral, situado normalmente en la dermis o en el tejido subcutáneo, y por un conducto excretor que se abre en la superficie de la piel.

La porción secretora de estas glándulas tienen una estructura formada por dos tipos de células diferentes, -- unas grandes y voluminosas de claro núcleo y cuyo citoplasma acidófilo es rico en glucógeno, mientras que las del segundo tipo son oscuras, existiendo en su citoplasma granu-

laciones basófilas, mucopolisacáridos y RNA. En la base de esta zona secretora existen células musculares que por su contracción expulsan el sudor que es vertido al canal o — conducto excretor, formado por una bicapa de células con — aspecto cúbico. Las células que revisten interiormente los conductos de estas glándulas sudoríparas sufren un proceso de queratinización algo modificado respecto al epidérmico, ya que el tipo de queratina al que da lugar en este área — tiene propiedades diferentes a la del estrato córneo.

La zona secretora de las glándulas ecrinas se encuentra rodeada por abundantes vasos y está inervada por fibras colinérgicas simpáticas.

El sudor secretado por las glándulas ecrinas es claro y acuoso, constituido principalmente por agua y cloruro sódico en solución. Existen pruebas de que los conductos — no actúan tan sólo como simples cauces conductores del sudor hacia la superficie cutánea, ya que al parecer están — implicados en la reabsorción activa de agua y electrolitos procedentes de una secreción primaria (18), de forma análoga a los procesos que tienen lugar en los túbulos renales.

En cuanto a las glándulas sudoríparas apocrinas u — olorosas poseen también una estructura tubular, insertándo se la zona inferior o secretora en el tejido subcutáneo, — siendo su conducto excretor paralelo al folículo piloso en

cuyo canal desemboca.

La porción secretora, al igual que la de las glándulas ecrinas, está constituida por un túbulo en espiral que a su vez lo forma un epitelio que yace sobre una gruesa — membrana basal, existiendo entre ambos una capa de células musculares que al contraerse favorecen la salida de la secreción glandular, que se corresponde con todo el contenido celular —glándulas holocrinas— .

Las glándulas apocrinas son menos numerosas que las ecrinas quedando su distribución delimitada en zonas tales como las axilas, conducto auditivo externo, región anogenital y areola mamaria. Segregan estas glándulas los precursores de los componentes olorosos del sudor sujetos en parte a la descomposición bacteriana. Comienzan a aparecer estas glándulas con el inicio de la pubertad, por lo que es evidente su relación con la función sexual y su actividad, que responde a estímulos adrenérgicos, disminuye de forma gradual cuando lo hace la actividad gonadal (16).

EXCIPIENTES DE  
POMADAS

## II LOS EXCIPIENTES EN LA FORMULACION DE POMADAS

Los conocimientos adquiridos a finales del siglo pasado (descubrimiento de la propiedad de la lanolina de absorber agua e, incluso, emulsionarse con ella, empleo a partir de 1876 del ácido esteárico como sustitutivo de la cera primero y más tarde, junto a sus derivados, por sus propiedades emulsivas) abren nuevos horizontes a las investigaciones del presente siglo, pues se tiende a que los preparados tópicos, tanto farmacéuticos como cosméticos, presenten buen aspecto y consistencia. A la vez y de forma paralela las fórmulas tradicionalmente usadas sufren modificaciones al incluir sustancias antioxidantes, endurecedoras, humectantes, etc., con objeto de mejorar su conservación, apariencia o capacidad hidrofílica.

Los excipientes oleaginosos conocidos desde antiguo, experimentan progresos en cuanto a sus características organolépticas, si bien con el empleo de los excipientes hidrocarbureados, los grasos tradicionales comienzan a quedar relegados. Se encuadran estos vehículos dentro de las bases hidrófobas, entre los que cabe mencionar también a los derivados del dimetilpolisiloxano o siliconas, cuyo uso comienza en el presente siglo hacia la década de los cuarenta. Las cremas formuladas a partir de estas sustancias tendrán, al igual que las de parafina, una función, más que curativa, preventiva, en la doble vertiente de protectoras o emolientes (19, 20, 21, 22, 23).

Lo más generalizado es el uso de estas cremas con un 30% de silicona en vaselina, ya que ambos componentes se comportan como verdaderos protectores cutáneos y junto a los demás excipientes hidrófobos -manteca de cerdo, cera etc. - dan lugar a las denominadas "pomadas epidérmicas", de escasa o nula penetración cutánea.

Otro de los adelantos en la formulación tópica surge con el empleo en farmacia de la lanolina, puesto que el desarrollo de sus posibilidades así como las de sus derivados constituyen el desencadenante de las bases de absorción formadas en general por mezclas de esteroides animales y vaselina, siendo capaces de incorporar agua sin perder su consistencia, dando lugar a emulsiones A/O. El poder de penetración de los preparados formulados con estos excipien-

tes llega incluso a las capas más profundas de la piel; — constituyen las "pomadas endodérmicas", estando indicadas cuando el efecto terapéutico de la sustancia activa sea sobre lesiones localizadas debajo de la epidermis.

La formulación de pomadas se sigue perfeccionando — al conseguir excipientes con capacidad de aceptar soluciones acuosas de principios activos, puesto que estudios — científicos demuestran una mayor eficacia terapéutica en — aquellos preparados con contenido acuoso respecto a los enteramente hidrófobos. Esta circunstancia, unida a la aparición de nuevos compuestos químicos de acción humectante — unos, dispersante y/o emulgente otros, hace que se ensanche en gran medida el campo de aplicación de las clásicas pomadas. Gracias al mecanismo por el que actúan estos compuestos se llega a la obtención de los excipientes emul — sión, ya sean de fase externa oleosa o acuosa, tomando estos últimos el nombre de bases lavables o cremas evanescentes.

Por su contenido acuoso estos vehículos resultan — más fluidos —acentuado en los O/A—, por lo cual se les adicionan endurecedores como los alcoholes cetílico y cetoes — tearílico, que a la vez aumentan el índice de agua de la — preparación final. La glicerina, propilenglicol, polieti — lenglicoles, etc., actúan como humectantes y a la vez que — reducen la pérdida de agua por evaporación, en las emulsi — nes O/A constituyen parte de la fase acuosa en las mismas.

Con el fin de evitar el crecimiento bacteriano en estas -- fórmulas, por su elevado contenido acuoso, se les suele -- añadir conservadores tales como los derivados del ácido -- p-hidroxibenzoico.

Como compuestos emulgentes son muy utilizados los -- ésteres polioxietilen derivados del sorbitano, jabones al- calinos o aminados, sulfatos alquílicos, estearatos como -- el monoestearato de glicerilo, compuestos de amonio cuater- nario, etc. La elección del agente emulgente estará sujeta al signo de la emulsión, que análogamente condicionará los demás componentes de la fórmula.

Una característica del emulgente es la de facilitar la liberación del principio activo; por ello este tipo de excipientes, junto a los denominados hidrosolubles y geles acuosos, dan lugar a las "pomadas diadérmicas" que favorecen la penetración, ya que atraviesan la piel y facilitan la absorción de los componentes activos.

Dentro de los excipientes hidrosolubles cabe mencio- nar los polímeros superiores del etilenglicol, compuestos- éstos untuosos, de aspecto céreo, con inercia química y -- susceptibles de formar bases de pomadas. De ellos, el poli- etilenglicol (P.E.G.) 4000 es muy usado en la formulación- de pomadas por darles consistencia, aunque lo más común es el empleo de mezclas de P.E.G. de alto y bajo peso molecu- lar (P.m.).

Respecto a los geles acuosos se pueden mencionar -- una serie de sustancias capaces de dar con el agua soluciones coloidales, como pectina o los derivados de la celulosa, -metil e hidroximetilcelulosa-, que por su estructura hidrocarbonada forman geles al absorber grandes cantidades de agua. Se emplean como vehículos de pomadas en los que -- actúan como estabilizadores al aumentar su viscosidad. También como tales agentes actúan otros productos como: bentonita, silicato coloidal de Mg y Al (VEEGUM<sup>R</sup>) o el gel de sílice -emulgente A/O-, gelatina, etc.

Algunos de estos compuestos pueden formar por sí -- mismos excipientes de pomadas en estado de gel, como metilcelulosa junto a agua y gelatina, alginato sódico al gelificar sus soluciones por la adición de pequeñas cantidades de sales cálcicas, etc.

Dentro de este grupo de excipientes hay que mencionar un compuesto de síntesis, derivado carboxipolimetilénico, denominado CARBOPOL<sup>R</sup> 934 con capacidad de formar soluciones coloidales. Este compuesto se conoce desde hace años (1957) y ha sido utilizado en forma de mucílago (2%) en la preparación de diferentes vehículos tópicos: lociones, suspensiones y cremas evanescentes, en los que actúa como espesante. Sin embargo, una característica importante de este compuesto es que con él se consiguen geles acuosos, de probada estabilidad y consistencia, tras la gelificación -- de sus soluciones ácidas por la adición de bases orgánicas

tipo trietanolamina, diisopropanolamina... o soluciones al calinas inorgánicas de bicarbonato sódico o hidróxido sódico. Las fórmulas suelen llevar además sustancias humectantes como glicerina, polietilenglicol, propilenglicol, alcohol, etc. Varios principios activos, generalmente de naturaleza esteroidea, potencian su eficacia terapéutica cuando se formulan con estos excipientes.

En la formulación actual de pomadas se utilizan la mayoría de los excipientes mencionados, escogidos en cada caso para facilitar la consecución del fin perseguido.

La diferencia con épocas anteriores la encontramos, por un lado, en la inquietud demostrada por los investigadores de este campo en determinar el excipiente más idóneo para cada principio activo y por tanto del fin terapéutico y, por otro, en la incidencia tecnológica e industrial en cuanto a la preparación de nuevos vehículos para uso tópico (24).

Respecto a este punto se prevé que, cada vez más, - se emplearán los excipientes "preformulados", entendiéndose como tales a las bases que en estado anhidro contienen la mayor parte de los componentes de un vehículo. En la actualidad ya son varias las comercializadas y se puede asegurar que su número y uso aumentarán en un futuro próximo - merced a las ventajas que comportan de estabilidad, almace

namiento, conservación y fácil manejo al elaborar una fórmula (a).

---

(a) En el mercado nacional existen algunas muy especializadas según el preparado dermatológico que se pretenda obtener, como p. ej., la serie de DEREK, GATTEFOSSE, GLYCO IBERICA, Lab. SQUIBB, SHERING, etc., que incluyen en su presentación la composición cualitativa.

PENETRACION

PERCUTANEA

### III TRANSFERENCIA DE FARMACOS A TRAVES DE LA PIEL

Para poder comprender los fenómenos relacionados — con la acción terapéutica de la medicación tópica se hacía imprescindible el conocimiento de las distintas estructuras de la piel y de sus características, tema que ya ha sido considerado. La mayoría de las dermatosis tienen su localización en las capas vivas cutáneas; de ahí que deba estudiarse todo lo concerniente a la función "barrera" ejercida por la epidermis ante los medicamentos depositados sobre la piel, puesto que los fármacos para ser absorbidos tendrán que atravesarla, después de haberlo hecho a través de la película lípido proteica que recubre a la piel, pudiendo quedar a este nivel — sustancias con cierta penetrabilidad respecto de la capa córnea— o bien, conseguir en —

trazarse en contacto con las células vivas epidérmicas para difundirse por último al medio extracelular dérmico, desde donde pasarían al torrente circulatorio, existiendo en estos casos una verdadera absorción de las sustancias activas, provocando entonces, si la concentración es suficiente, una acción sistémica.

El conocimiento de esta función epidérmica debe ir unido al examen de la dinámica de aquellos fenómenos que hacen posible la transferencia cutánea de fármacos. El conocimiento exacto de estos aspectos —función barrera y dinámica del pasaje— determinará la formulación galénica más idónea para cada indicación terapéutica y para cada sustancia activa. De aquí la importancia del excipiente en la terapéutica tópica, pues si bien antes era desestimada, hoy día la ponen de manifiesto gran número de investigaciones al considerarlos como coadyuvantes de la acción terapéutica de los principios activos.

### III.1 Localización de la barrera.

Han sido numerosos los estudios realizados para aclarar los procesos de penetración y absorción percutánea puesto que la piel, como ya se ha dicho, comprende una serie de estructuras específicas que son un verdadero obstáculo para la entrada de numerosas sustancias químicas. En general se puede decir que la piel es permeable, según el

criterio clásico, a los compuestos grasos o liposolubles, a la vez que se opone al paso de los electrolitos.

PLEIN compara los índices de penetración y absorción de varios principios activos incorporados a diversos excipientes, en condiciones de piel intacta y previamente lesionada, obteniendo resultados diferentes en cada caso. Esto es debido a que en la epidermis, desde un punto de vista fisiológico, hay que considerar la existencia de una barrera cuya existencia fué confirmada por las investigaciones de SZAKALL (26) basadas en el empleo de ciertos adhesivos con los que consiguió aislar una membrana fina, cuya estructura fibrosa y elástica, está constituida por células especializadas, siendo la responsable de la resistencia a la difusión de determinadas sustancias a través de la piel.

Esta "membrana-barrera" se localiza en las capas inferiores del estrato córneo y por encima del granuloso, aunque algunos autores piensan que esta barrera se corresponde con el estrato lúcido epidérmico (27), si bien, lo más generalizado es admitir que la barrera que se opone a la transferencia cutánea la forma una densa zona queratinizada constituida por varias capas estrechamente superpuestas, incluida en el estrato córneo, que se conoce como -- "stratum corneum conjuntum" (28).

Por encima de esta zona ni la película lípido-pro--

teica, ni la capa córnea superior -"stratum disjunctum"- oponen resistencia específica a ser embebidas por distintas sustancias. Una vez pasada la membrana-barrera, el resto de la epidermis no constituye obstáculo importante para el paso de sustancias hasta los vasos sanguíneos dérmicos. Lo mismo sucede cuando se elimina, de forma experimental, esta membrana excluyente, ya que la epidermis que aún subsiste se comporta como el resto de las membranas vivas (29).

VICKERS comprueba la existencia de una barrera adicional situada en la unión dermo-epidérmica (28), de influencia insignificante ya que la mayoría de los autores indican que es atravesada sin dificultad por aquellas sustancias que previamente han atravesado el estrato córneo.

### III.2 Vías de transferencia cutánea.

El análisis de las posibles vías de penetración percutánea ha de ir unido al estudio anatómo-fisiológico de las estructuras que intervienen en el proceso (véase parte general pg. 14 y siguientes) así como al de los fenómenos fisicoquímicos que inciden en el proceso.

Dejando a un lado los casos de pieles dañadas o fisuradas, en los que la penetración se realiza por una vía anómala, los caminos o rutas de transferencia para pieles normales quedan reducidas a:

- Conductos sudoríparos
- Unidad pilosebácea
- Estrato córneo

La penetración a través de los anejos cutáneos transcurre primeramente por difusión de las sustancias hidrosolubles interpuestas en agua (30). Sin embargo, a juicio de algunos autores las glándulas sudoríparas juegan un papel casi nulo en la penetración cutánea (31), aunque de forma experimental se ha puesto de manifiesto que para algunas zonas de la piel la entrada de ciertos compuestos en sus conductos, si bien no se ha podido comprobar que ello esté seguido de una ulterior transferencia a la dermis.

La unidad pilosebácea podría constituir una segunda alternativa en las vías de penetración, pero en general — los índices alcanzados son de escasa importancia ya que — tal fenómeno sucede en el período de latencia que sigue a toda aplicación tópica, y para aquellas sustancias unidas a agentes humectantes (30). Sin embargo, esta vía es selectiva para ciertos compuestos como algunos detergentes y — corticoides (32, 33).

Queda, pues, el estrato córneo como la principal — vía de penetración, que a su vez regula su acción selectiva en función de su carga eléctrica y estructura.

Por esta vía, las moléculas polares podrían tener —

como única fuerza impulsora el gradiente de concentración - que determinaría su paso a través de las paredes celulares del "stratum conjuntum" y no por un camino intercelular.

Esta hidratación forzada de la capa córnea al parecer, facilita la permeabilidad de dicho estrato para las - sustancias polares (32), por provocar la formación de poros o canaliculos - constituidos por proteínas filamentosas - que se rellenarían rápidamente de agua, ofreciendo de esta forma un camino de entrada para estos compuestos. Sin embargo, esta modificación de la función barrera es ligera si se tiene en cuenta que las proteínas de esta capa son - difícilmente modificables por el agua por encontrarse en su punto isoeléctrico.

En cuanto a las moléculas apolares también pueden - penetrar por el estrato córneo, ya que los lípidos que la conforman - por un lado, los de la secreción sebácea y, por otro, los presentes dentro de la célula - ofrecen una vía - de entrada para tales sustancias una vez disueltos en ellos. De esta forma, los compuestos no polares pueden difundir a través de la matriz lipídica de los queratinocitos que a su vez queda unida a la queratina por formación de complejos.

### III.3 Retención de fármacos en las estructuras cutáneas

La mayoría de los fármacos llegan, por una u otra vía, a la dermis, en donde la abundante irrigación los absorbe de un modo más o menos rápido. No obstante, la barrera de queratinocitos puede comportarse, para ciertas sustancias localmente aplicadas, como zona de depósito o reservorio. Así, MALKINSON y FERGUSON señalan que después de la aplicación local en el hombre de hidrocortisona marcada con  $^{14}\text{C}$ , la eliminación urinaria de radioactividad se prolonga durante varios días, lo que conduce a pensar en la existencia de zonas-depósito desde donde se van liberando las sustancias retenidas (34).

VICKERS confirma esta teoría en uno de sus trabajos sobre el acetónido de fluocinolona (35) demostrando, a su vez, que la acumulación del esteroide se efectúa a nivel del estrato córneo, llegando WASHITAKE a igual conclusión en estudios realizados con otros principios activos (36), pues, si elimina la capa córnea en el cobaya, a la vez que obtiene mayores índices de absorción para sustancias como el ácido salicílico y carbinosamina, desaparece el depósito de éstas en las estructuras córneas, fenómenos no observados en el tegumento íntegro. Del mismo modo, MUNRO analiza la presencia de corticosteroides como la fluocinolona en las células epidérmicas (37), al tiempo que observa co-

mo esta sustancia retarda la actividad mitótica de las que constituyen la membrana basal. Por otro lado, estudios comparativos de biodisponibilidad de principios como el benzoato de betametasona en diferentes formulaciones (38) argumentan que la retención del principio activo en las estructuras córneas se pone de manifiesto en todas las ocasiones.

A la luz de estas investigaciones se puede decir -- que al ser varias las sustancias medicamentosas, corticosteroides principalmente, que quedan retenidas en las células córneas, podría tener gran importancia este hecho dentro de la terapia dermatológica, puesto que la acción farmacológica de las mismas se prolongaría en el tiempo después de una sola aplicación consiguiéndose una acción sostenida.

Sin embargo, el estrato córneo no es siempre la única causa en los fenómenos de retención cutánea (39), pues la dermis interviene análogamente en tales fenómenos. Así, se ha podido comprobar que fármacos como la testosterona y alcohol bencílico son retenidos fuertemente en dicha capacutánea.

Por último, señalar que ciertos factores que presentan acción favorecedora de la penetración cutánea --humedad temperatura, etc-- al mismo tiempo pueden coadyuvar al incremento de las sustancias retenidas en estas zonas de depósito (40).

### III.4 Aplicación de las leyes de difusión a los fenómenos de transferencia.

A partir de los trabajos de TREHERNE (41) se vió que la mayoría de las moléculas químicas se absorben a través de la piel por difusión pasiva (42). La velocidad de absorción no es constante al comienzo del proceso por existir un "tiempo de latencia" que viene a representar el plazo necesario para que la sustancia penetre en las estructuras córneas y poder establecerse el gradiente de difusión. En la transferencia percutánea incide en gran medida la concentración del fármaco en el preparado tópico de tal manera que, por lo general, un incremento en la cantidad de fármaco en el sistema redundará generalmente en una mayor cantidad absorbida. Sin embargo, la relación que liga ambos incrementos no es lineal, pues se llega a un nivel en que la cantidad que penetra se hace constante aunque la concentración siga aumentando, actuando la barrera epidérmica como limitante de la cantidad total de fármaco que pueda pasar por unidad de tiempo.

Estas relaciones se han intentado cuantificar aplicando la ley general de difusión de FICK, en la que el flujo de la sustancia que penetra, en dirección perpendicular a una membrana es proporcional al gradiente de concentración entre las dos caras de la misma:

$$\frac{dQ}{dt} = K_p \cdot S \cdot \Delta C \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:

$dQ/dt$  = cantidad de sustancia absorbida por unidad de tiempo (flujo).

$K_p$  = constante de permeabilidad, propia de cada sustancia

$S$  = superficie de la membrana

$\Delta C$  = gradiente de concentración

En general, la ley de FICK se aplica a concentraciones bajas, menores que aquellas en que se establece un - - equilibrio de flujo constante.

Variando la concentración, las determinaciones del flujo permitirán fijar el valor de  $K_p$  para un fármaco y un excipiente determinados.

Por otro lado, en el paso de un fármaco a través de membranas es de destacar la importancia que sobre éste tiene el coeficiente de reparto de la sustancia en cuestión.- Para el caso de los medicamentos tópicos se puede extrapolar esta circunstancia que conduce a una relación de las - constantes de permeabilidad de una serie de fármacos, con sus coeficientes de reparto (41), sugiriendo además que la penetración cutánea se vería favorecida para las sustancias con un coeficiente cercano a la unidad.

Para analizar este dato podría recurrirse a un sistema simple en el que se considerara sólo el paso de la sustancia a través de la barrera epidérmica sin tener en cuenta el excipiente. Para este caso HIGUCHI (43) expresa la ecuación 1 de la forma siguiente:

$$\frac{dq}{dt} = \frac{K_m \cdot D \cdot S \cdot C}{e} \quad (\text{Ec. 2})$$

en donde:

$K_m$  = coeficiente de reparto del fármaco entre la barrera epidérmica y el vehículo

$D$  = coeficiente de difusión del fármaco en el interior de la membrana

$e$  = espesor de la membrana

Comparando las ecuaciones 1 y 2 la constante de permeabilidad se puede expresar (44):

$$K_p = \frac{K_m \cdot D}{e} \quad (\text{Ec. 3})$$

Con ella se determina el poder de penetración de una sustancia a través de una membrana, que será tanto más elevada cuanto mayor sea éste.

Para una sustancia que difunda por todas las estructuras de la piel la constante de permeabilidad es la resultante de otras que son las correspondientes de la molécula en la capa córnea, epidermis viva y dermis (30). Por otro lado, en la mayoría de los compuestos, la resistencia a la

difusión en el estrato córneo es bastante más elevada que las que oponen epidermis viva y dermis, de tal manera que viene a ser el factor limitante de la penetración cutánea (45), si bien en algunos casos -moléculas muy lipófilas- la resistencia mostrada por las capas vivas adquiere gran importancia (32) ya que se oponen a su absorción. Sin embargo, a pesar de estas excepciones la constante de permeabilidad de la piel entera, en general, se puede asemejar a la,  $K_c$ , del estrato córneo. De esta forma:

$$K_p = K_c = \frac{K_{mc} \cdot D_c}{e_c} \quad (\text{Ec. 4})$$

donde:

$K_{mc}$  = coeficiente de reparto del principio activo entre capa córnea y excipiente

$D_c$  = coeficiente de difusión del principio activo en el estrato córneo

$e_c$  = espesor del estrato córneo

Este modelo no se aplica a situaciones clínicas, pero con frecuencia el término de flujo, expresado mediante la ecuación 2, se ha usado en experiencias in vitro para predecir la naturaleza y magnitud potencial que tiene el efecto del excipiente sobre la transferencia de principios activos, demostrándose la dependencia de la penetración como la respuesta clínica con la composición del vehículo.

Otros modelos ya más cercanos a la realidad e ideados igualmente por HIGUCHI, consideran que la velocidad de transferencia es función también de la velocidad de libera

ción del fármaco a partir del excipiente. Se presentan dos casos según el estado en que se encuentre el principio ac tivo en el seno del excipiente: en solución y en suspens sión o emulsionados. Para el primero de ellos se llega a una ecuación que deriva de la ley de FICK, que se simplifica para casos prácticos en:

$$Q = 2 C_0 \left( \frac{D_x \cdot t}{\pi} \right)^{0.5} \quad (\text{Ec. 5})$$

en donde:

Q = cantidad de fármaco por unidad de superficie aplicada

t = tiempo transcurrido desde la aplicación

C<sub>0</sub> = concentración inicial del principio activo en el excipiente

D<sub>x</sub> = constante de difusión del fármaco en el excipiente

Para el caso de las sustancias en suspensión o emulsionadas en el vehículo la ecuación que expresa esta situación es:

$$Q' = (2 C_0 - C_s) \left( \frac{D_x \cdot t}{1 + \frac{2 C_0 - C_s}{C_s}} \right)^{0.5} \quad (\text{Ec. 6})$$

en donde se introduce el término C<sub>s</sub> que representa la solubilidad del fármaco en el excipiente. Cuando ésta sea muy-baja puede despreciarse este valor, simplificándose la ecuación anterior a:

$$Q' = (2 C_0 \cdot D_x \cdot C_s \cdot t)^{0.5} \quad (\text{Ec. 7})$$

Comparando las ecuaciones 5 y 7 se deduce que a una concentración dada de fármaco la liberación es siempre más rápida ( $Q > Q'$ ) desde aquellos excipientes en los que la sustancia activa está solubilizada que de aquellos en los que se encuentra insoluble o en la fase dispersada, lo cual es fácilmente comprensible pues la fuerza impulsora en la -- transferencia de una sustancia activa dentro de la piel es la diferencia de potencial termodinámico, para una sustancia dada, entre excipiente y capa córnea (43). La actividad termodinámica de un fármaco depende, por un lado, de -- la concentración y coeficiente de actividad en el vehículo y, por otro, del polimorfismo o configuración espacial que presente (46), ya que los disolventes del principio activo pueden cambiar su estructura inicial para transformarla en otra menos estable (solubilizada y de gran energía) que de -- termine su paso a través del estrato córneo donde el fármaco será más estable.

Otras experiencias se han centrado en el estudio -- del incremento del tiempo de latencia con respecto a la -- composición del vehículo (47), determinando las implicaciones de la formulación sobre la barrera a la permeabilidad -- así como sus efectos en la retención de principios activos por parte de las estructuras cutáneas.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA  
BIBLIOTECA

### III.5 Factores con influencia sobre los fenómenos de transferencia.

Un conjunto de factores van a influir en la penetración a través de la barrera epidérmica, no diferenciándose esencialmente de los que regulan la absorción medicamentosa por otras vías de administración.

Se pueden clasificar en dos grupos: unos biológicos -inherentes a la piel- y otros fisicoquímicos -referidos al fármaco y vehículo-.

#### III.5.1. Factores biológicos

El estado que presenta la piel en el momento de la aplicación influye notablemente en los fenómenos de transferencia, ya que la piel intacta es una verdadera barrera frente a la difusión, disminuyendo su eficacia por daño o destrucción de las células córneas.

SCOTT, en uno de sus trabajos (48), encuentra que los índices de penetración de la hidrocortisona-<sup>14</sup>C son diferentes según se trate de una piel eritematosa o sana; del mismo modo, la velocidad de difusión de ciertas sustancias activas aumenta de forma considerable cuando previamente se erosiona el estrato córneo con cintas adhesivas (43) o por trauma químico -álcalis fuertes, ácidos, etc.- que destruyen o lesionan los queratinocitos. A veces tam-

bién se puede modificar la penetración en aquellos casos - en que con anterioridad la superficie cutánea sea tratada con determinados disolventes orgánicos (50); esta circunstancia queda sujeta al disolvente empleado, ya que su capacidad varía de unos a otros.

La zona de aplicación es otro factor a tener en cuenta. Se ha visto que para un mismo animal, la cantidad absorbida de una misma sustancia difiere con la región elegida en la aplicación. En el caso del hombre es también diferente la penetración en la piel dorsal respecto a la abdominal, del brazo o antebrazo (51), debido a que el espesor de la capa córnea no es uniforme en toda la superficie corporal. A esto hay que añadir que para una misma zona de aplicación y en diferentes personas, la permeabilidad a los fármacos puede resultar diferente, imputándose, de igual forma, al grosor del estrato córneo. Este factor se ha visto, por estudios in vitro, que incide en la velocidad de difusión de diferentes principios activos, pues sus variaciones conducirían por un lado, a un aumento del tiempo de latencia y, por otro, a una disminución del flujo de difusión.

Por otro lado, para una buena transferencia de fármacos es de gran importancia un grado óptimo de hidratación del estrato córneo. Si el contenido de agua en esta capa desciende a menos del 10%, la piel se hace quebradiza con lo que los fármacos y diversas sustancias, a veces -

irritantes potenciales, la atravesarán, cosa que en circunstancias normales no ocurriría. Por otra parte, el contenido acuoso de este estrato puede llegar hasta el 50% -- por aplicación de un excipiente oclusivo --vaselina, aceites o ceras-- ya que el agua de las transpiraciones sensibles e insensibles se incorporaría a la propia de dicho estrato (52) conduciendo ésto a una disminución de la resistencia en la difusión cutánea, relacionándose incluso sus efectos con cambios en el crecimiento y maduración epidérmico (53).

Las emulsiones A/O y O/A (éstas últimas al perder parte de su fase continua por evaporación y por absorberse, en un determinado momento se invierten a A/O) son algo menos oclusivas que los excipientes enteramente grasos, pero aún así favorecen la hidratación, a la vez que proporcionan a las capas superiores del estrato córneo --stratum disjutum-- lubricación y suavidad, hechos éstos que las hacen apreciadas por su influencia en los fenómenos de transferencia cutánea.

Al mismo tiempo una elevación local de temperatura y humedad relativa pueden provocar un aumento en la superficie del tegumento (35) a la vez que poseen gran importancia en la absorción de varios principios activos (54).

Por último, hay que considerar la edad de la piel -- dentro de estos factores biológicos, ya que la de los adul

tos, por sus cambios morfológicos y químicos, presenta una menor permeabilidad que la de los niños (55), siendo en estos tanto más permeable cuanto más pequeños sean.

### III.5.2. Factores fisicoquímicos

La penetración percutánea de sustancias activas se efectúa principalmente por difusión pasiva, dependiendo en gran medida de las características fisicoquímicas propias de cada sustancia.

Por otra parte, en el grado de penetración de una molécula interviene de forma decisiva el uso del excipiente más apropiado, jugando éste un papel un tanto complejo, ya que puede modificar las propiedades fisiológicas de la piel (p. ej. mediante un efecto hidratante) o bien la afinidad del principio activo a las estructuras córneas. Por tanto, la elección juiciosa del excipiente permitirá modular la biodisponibilidad de los fármacos en aplicaciones dermatológicas (56).

Dentro de los factores fisicoquímicos con significación en estos procesos se ha de considerar la constante de difusión, que para una molécula al pasar a través de una membrana se corresponde con la resistencia presentada por el medio que la rodea a lo largo de su desplazamiento, influyendo sobre la misma las características físicas, tanto

de la membrana como las de la propia sustancia. Se ha podido comprobar que moléculas de bajo  $P_m$  difunden más rápidamente que las de mayor  $P_m$ , siendo los índices de absorción inversamente proporcionales a éstos (57). A su vez, para los alcoholes alifáticos se observa como el coeficiente de reparto en favor de los lípidos se ve incrementado a medida que aumentan sus pesos moleculares (32), lo que redundaría igualmente en bajos índices de absorción.

Por otro lado, la constante de difusión dentro de una serie homogénea de esteroides disminuye cuando la polaridad de la molécula aumenta (58) debido a que estos grupos establecen enlaces, de mayor a menor energía, con las estructuras de la membrana, pudiendo ser reversibles o irreversibles. En el caso de los esteroides antiinflamatorios (58) y de otras sustancias (59), la unión es reversible, lo que determina que las moléculas sean liberadas lentamente hacia las capas profundas de la piel.

Para BLANK y SCHEUPLEIN (30) la ley de FICK es casi siempre aplicable para aclarar los procesos de penetración cutánea de gases e iones o moléculas electrolíticas; sin embargo, se observan algunas excepciones (60) cuando los compuestos modifican las estructuras cutáneas. Esto puede ocurrir en los casos en los que se apliquen sobre la piel concentraciones elevadas de un principio, pues si bien las cantidades absorbidas por unidad de superficie y tiempo son proporcionales a la concentración de la sustancia acti

va en el seno del vehículo, un fuerte aumento de ésta de -  
terminaría el que no se cumpliera la ley de FICK para una-  
zona determinada por provocarse una modificación en la es-  
tructura de la membrana, o bien, por una variación en el -  
coeficiente de reparto de la sustancia activa entre vehiculo  
y barrera cutánea. Se puede aprovechar esta circunstan-  
cia en los casos en que se pretenda aumentar la constante-  
de permeabilidad de ciertas sustancias al aplicarlas junto  
a las que desencadenan estos fenómenos (60).

La relación entre la concentración del fármaco y la  
cantidad del mismo absorbida ha sido demostrada mediante -  
experiencias realizadas sobre epidermis aisladas para soluci  
ones acuosas diluidas de butanol (61) así como para otros  
principios activos tales como hidrocortisona, cortisona, -  
androstenediona, etc. (55). Ahondando en el tema, también-  
estudia SCHLICHTING la posible relación entre diferentes -  
tipos de vehículos y los cambios en la concentración del -  
ácido retinoico para conseguir una descamación cutánea, enco  
ntrando que en los vehículos lipófilos, donde el princi-  
pio activo es relativamente insoluble, era preciso forzar-  
su concentración para conseguir el efecto pretendido, mientr  
as que en los hidrófilos, donde el ácido retinoico es --  
más soluble, se obtenía igual respuesta con menor concen-  
tración (62); se corrobora, pues, la deducción extraída --  
por la comparación de las ecuaciones matemáticas (pg. 50 y  
siguientes) que expresaban la velocidad de liberación del-  
fármaco en relación con su grado de solubilidad en el excipi

piente.

Por otro lado, TREHERNE (41) demuestra además la importancia del coeficiente de reparto de las sustancias que defunden al relacionarlos con la transferencia de varias sustancias, encontrando que el grado de penetración es tanto más elevado cuanto más cercano a la unidad es este coeficiente. MARZULLI (57), así mismo, al estudiar la migración del ácido fosfórico y distintos fosfatos a través del estrato córneo, encuentra que los compuestos benceno-agua presentan un coeficiente alrededor de la unidad, lo cual implica una misma afinidad para ambos disolventes y, por consiguiente, son rápidamente absorbidos, en tanto que lo hacen lentamente cuando dicho coeficiente se aleja de este valor. También ha sido observado este fenómeno para soluciones acuosas de diversos principios activos, así: ac. nicotínico y sus ésteres (63), ac. salicílico y sus ésteres (64), ac. bórico y sus sales (65) y para los corticoides (66) entre otros.

Los coeficientes de reparto o de distribución, entre los componentes de mezclas bifásicas, se obtienen generalmente mediante técnicas experimentales en las cuales la membrana biológica queda representada por disolventes orgánicos como el cloroformo, octanol, benceno, éter, miristato de isopropilo, etc; de entre todos ellos quizá sea el miristato de isopropilo el que permita obtener resultados más próximos a la realidad (66). Además se supone que la

medida de distribución de la sustancia, que penetra, en el excipiente y estrato córneo es análoga a la del coeficiente de reparto entre los fragmentos de este tejido y el vehículo.

Basándose en esto, SCHEUPLEIN (32) propuso este procedimiento en su estudio sobre la penetración cutánea de alcoholes alifáticos, encontrando que la constante de permeabilidad de estas sustancias y sus respectivos coeficientes de reparto -capa córnea y agua- eran directamente proporcionales. A estos mismos resultados se ha llegado con soluciones acuosas de esteroides (58).

La determinación de este factor tiene lugar una vez se haya alcanzado el equilibrio en el reparto de la molécula, cosa que se consigue tras el contacto prolongado del tejido córneo con el excipiente; nuevamente hay que señalar el hecho de que el vehículo pueda dañar parcialmente a la membrana puesto que los valores obtenidos estarían sujetos a errores.

Otro factor a tener en cuenta es la solubilidad relativa de los fármacos frente al vehículo o hacia las estructuras epidérmicas, puesto que influye en su coeficiente de reparto (67), es decir, aunque el valor de este coeficiente no se corresponda sólo con la solubilidad de una determinada sustancia, puede reflejar la afinidad más o menos reversible para con los constituyentes del tegumento.

Se puede decir que, en términos generales, cuando una sustancia presente afinidad hacia la queratina tendrá un coeficiente de reparto favorable para el estrato córneo y por tanto su penetración por esta vía se verá favorecida (68), mientras que las posibilidades de difusión dejan de ser — las óptimas para sustancias con coeficiente muy elevado, — caso de sustancias muy lipófilas (69), ya que quedarán retenidas en la capa córnea estando impedida su transferencia a través de la epidermis viva y dermis.

Al comienzo de este apartado apuntábamos la influencia de los excipientes sobre la penetrabilidad de los fármacos, llegándose a esta certeza tras una gran variedad de experiencias que, realizadas sobre piel humana y animal in vivo e in vitro y por técnicas diversas, han conseguido — evaluar todos aquellos factores, propios de cada uno de — los componentes del vehículo, de los que pudiera derivar — una buena transferencia del fármaco. Como resultado de todo ello puede decirse que dos son los caminos a seguir a — la hora de elaborar una fórmula destinada a la vía percutánea, consistiendo uno de ellos en la introducción de determinados agentes en el seno del excipiente que pueden modificar la estructura de la barrera cutánea, facilitando de esta forma la penetración de la sustancia activa (70, 71) — siendo el segundo la elección de los excipientes a partir de los que el principio activo difunda con más facilidad — hacia las estructuras córneas (67, 72). En uno y otro caso

el excipiente favorecerá de forma indirecta la absorción - del fármaco, si bien este efecto no va nunca ligado a su - poder penetrante, pues aparte del agua (73), la mayoría de los vehículos no difunden a las estructuras cutáneas (74).

Sin embargo, los denominados coadyuvantes de la penetración, al contrario de los excipientes clásicos, pueden atravesar la piel, ya que estos compuestos en estado - puro o en soluciones diluidas, actúan modificando los constituyentes del estrato córneo, por provocar un hinchamiento de sus estructuras o por sustituir el agua en ellas contenida (25).

Son varios los disolventes orgánicos con este mecanismo de acción que permite la penetración y/o absorción - de los fármacos en ellos disueltos (74). Como tales se usa con frecuencia: dimetilsulfóxido, dimetilforamida, dimetilacetamida y dimetilsebacato. El poder coadyuvante de estas sustancias es diferente entre ellos y con respecto a la - penetración de los fármacos.

EVALUACION DE LA PENETRA  
CION Y ABSORCION PERCU  
TANEAS

#### IV METODOS DE EVALUACION DE PENETRACION Y ABSORCION PERCUTANEAS

Las cantidades absorbidas de una sustancia activa, -- por vía percutánea, son mínimas viéndose dificultada, por tal motivo, su determinación. Sin embargo, la biodisponibilidad de los principios activos se refiere precisamente a esas cantidades absorbidas y no a las administradas, ya -- que por definición este término se corresponde con la fracción o porcentaje de dosis que la forma de dosificación pone a disposición del organismo en condiciones óptimas de -- absorbabilidad (77).

El estudio de la transferencia y/o absorción percutánea no se ha desarrollado de forma satisfactoria hasta -- hace pocos años, debido en parte a que las técnicas empleadas

das, por su escasa sensibilidad, no permitían la detección de las sustancias que penetraban y, menos aún, las microcantidades que de ellas se absorbían, usándose como referencia, tan sólo las evaluaciones farmacodinámicas de los fármacos en cuestión (79).

Hoy día para valorar la disponibilidad de un principio activo se dispone de técnicas analíticas que aportan la sensibilidad y especificidad para estas determinaciones (80) que, en general, se llevan a cabo por medio de métodos "in vitro" o "in vivo" (81).

#### IV.1 Metodos "in vitro"

Se basan en el estudio de la liberación y posterior difusión del principio activo con el fin de apreciar la facilidad con la que los excipientes ceden al medio en contacto dicha sustancia.

En estos estudios se ofrecen varias posibilidades en cuanto a la metodología a seguir, si bien poseen básicamente el mismo fundamento: la muestra a ensayar se deposita en un compartimiento donador y la liberación del principio activo tiene lugar en un segundo, receptor. Sin embargo difieren entre sí por el hecho de que los dos receptáculos puedan, o no, estar separados por una membrana de difusión. La interposición de dicha membrana tiene interés por

evitar los posibles cambios en la superficie de contacto - fase donadora/fase receptora- ya que los ensayos tienen lugar sobre preparados de consistencia variada.

En general, todos los ensayos "in vitro" han de ir sujetos a una serie de condiciones experimentales tendentes a conseguir un acercamiento lo más próximo con los fenómenos que ocurren en el organismo humano. Así la temperatura a que desarrollan las experiencias varía de unos métodos a otros, pero en general queda siempre en torno a la de la piel (32-34 °C) (84); sin embargo son las de 37 y 37,5 °C las usadas con más frecuencia (85, 86).

Como compartimiento receptor o dérmico se utilizan medios de distinta naturaleza: agua destilada (84), solución Ringer (82), solución reguladora de fosfatos (85); o bien en los casos que utilizan la piel como membrana de difusión se emplean soluciones salinas adicionadas de algunos antibióticos. Otras veces se emplean medios lipídicos (67, 83) que actúan a la vez como membranas y compartimiento receptor.

Para asegurar una concentración uniforme del principio activo en el seno de la zona dérmica es importante que ésta quede sometida a agitación constante, que generalmente es de tipo mecánico (84) aunque en algunos casos se consigue por bombeo (81).

La recogida de muestras se practica en los compartimientos receptores pudiendo realizarse de dos formas, bien a intervalos de tiempo regulares (83, 84, 85) o bien de — forma continua (86), en donde no se precisa la corrección del volumen después de cada análisis.

Son varios los procedimientos "in vitro", pudiendo clasificar a los dispositivos en los que se fundamentan en estudios de liberación del principio activo a partir del — excipiente y en los que además comprueban su difusión a — través de la piel o membranas artificiales.

A continuación se hace una relación de estos mode — los:

**IV.1.1. Modelos para el estudio de liberación  
medicamentosa.**

**MÉTODOS**

**DISPOSITIVOS**

En gelosa:	Cilindros de HEATLY Pozos de gelosa Tubos de BILLUPS (87)
En agua:	Dispositivo de CHOWAN y PRITCHAR (84)
Por diálisis a través de membranas artifi- ciales:	Célula de GUYOT-HERMAN (82) " " WOOD (88) " " difusión rotacio- nal (89) Aparato de SARTORIUS adaptado (90,91,92,93)

**Comentarios**

Los estudios de liberación basados en la difusión - de fármacos a través de gelosa quedan relegados para aque- llas sustancias que puedan dar reacción coloreada al ir di- fundiendo por dicho medio, o bien a las de naturaleza bac- tericida o bacteriostática (87). Sin embargo, son de inte- rés para las experiencias centradas en el estudio compara- tivo de la liberación de un mismo principio activo en el - seno de diferentes vehículos.

En cuanto a los métodos que siguen la difusión de -

fármacos en el agua, son simples en su fundamento aunque - se suelen usar casi exclusivamente para principios activos de naturaleza esteroide y formulados en excipientes lipófi- los.

Por otro lado, los procedimientos fundamentados en la diálisis del fármaco a través de membranas son mucho - más utilizados, existiendo incluso estudios (90) basados - en la observación del distinto comportamiento de las dife- rentes membranas frente a éstos fenómenos de difusión. Se emplean, entre otras, membranas de celofán (82,88,90), co- lodión, nitrato de celulosa (90,91,92,93) etc., actuando - siempre a modo de barrera de separación entre la forma ga- lénica y el medio receptor.

**IV.1.2. Métodos para el estudio de la difusión  
medicamentosa**

**MÉTODOS**

**DISPOSITIVOS**

Difusión en disolvente graso	Procedimiento de POULSEN (83)
Difusión a través de membranas biológicas:	Células de:
- Piel humana (44,71,84 - 85,94,95)	AINSWORTH (94)
- Piel animal (80,93,94)	AGUIAR y WEINER (95)
	COLDMAN (72)
	FRANTZ (84,85)
	MARTY (44)
	JOSSE-AUZELLE (81)
	SMITH y PECK (86)
	FOREMAN (95,96)
Difusión a través de membranas sintéticas semejantes a las biológicas:	Membranas polimerizadas no porosas
	Membranas lipídicas compuestas (90,95)
Otros métodos:	Delaminación progresiva de los cimientos celulares

**Comentarios**

Los estudios cuyo objetivo es la búsqueda de una difusión cutánea simulada, al utilizar un disolvente graso, son por lo general de metodología sencilla y conducen con gran aproximación al índice de difusión de esteroides y, por tanto, permiten apreciar su posible penetración cutá -

nea (67,83) pudiendo evaluar de esta forma su posible actividad farmacológica.

En cuanto a los métodos para el estudio de la difusión a través de membranas biológicas, son interesantes siempre y cuando el aislamiento del tejido cutáneo no modifique en gran medida la permeabilidad de la piel. En este punto existe disparidad de criterios, ya que mientras unos investigadores (94) encuentran velocidades de difusión semejantes a lo que ocurre "in vivo", otros apuntan que por el hecho de separar la piel del resto del cuerpo se aumenta su permeabilidad en dos o tres veces (81,85).

Sin embargo, se han estudiado varios factores con estos procedimientos, como el efecto de la variación en la concentración de tensioactivos o propilenglicol, en determinadas formulaciones, sobre la penetración de principio activo, o bien la mayor o menor permeabilidad cutánea frente a determinados compuestos orgánicos que permiten apreciar la similitud "in vivo" e "in vitro" de la cinética de absorción.

Estos métodos permiten el estudio de los fenómenos de retención del producto activo en las estructuras cutáneas (44) así como la de algunos conservadores (86), a partir de lo cual se ha podido investigar el coeficiente de reparto de las sustancias retenidas en la membrana y como se modifica este valor respecto a la polaridad de la sus -

tancia que difunde.

Además, se ha podido comprobar la correlación existente in vivo-in vitro (81), si bien ésta permanece durante un breve periodo pasado el cual todo lo establecido in vitro siempre es más patente que in vivo.

Otros investigadores (96) a partir de estos métodos han determinado las constantes de difusión de la sustancia activa en condiciones próximas a la de una terapéutica tópica oclusiva y no oclusiva con objeto de comprobar la influencia de la hidratación cutánea sobre los parámetros de difusión, advirtiendo cómo los estudios "in vitro" pueden ser un buen indicador de lo que pueda ocurrir "in vivo".

Por otro lado, las membranas sintéticas (polimerizadas no porosas o lipídicas compuestas) se utilizan para determinar también la difusión del producto activo y por tener una naturaleza próxima a la de la piel, poder asemejar los resultados obtenidos a los extraídos en pruebas "in vivo".

A diferencia con las membranas empleadas en los estudios de liberación por diálisis, el producto activo debe solubilizarse en los constituyentes de estas membranas para poder pasar a su través. Algunos autores (81) preconizan su uso eventual, en los ensayos "in vitro", en lugar de la piel debido a la similitud de resultados con uno y

otro soporte.

Otros investigadores (90,95) emplean membranas lipido-compuestas (fosfolipídicas) que por su constitución son muy próximas a las biológicas.

Por último, los procedimientos basados en el aislamiento progresivo de las capas celulares del estrato córneo permiten sin duda ver la migración o transferencia de los fármacos a través de dicho tegumento, al apreciar de forma cuantitativa su reparto. Son estas, técnicas muy delicadas cuyo montaje resulta difícil.

#### IV.2. Métodos "in vivo"

Los métodos biofarmacéuticos para la evaluación de la absorción percutánea de producto activo son muy numerosas debido a la gran complejidad de los mecanismos y factores que intervienen en la transferencia cutánea.

En general la clasificación de estos métodos va a depender principalmente del preparado galénico y de la indicación terapéutica del principio activo, siendo la finalidad de todos ellos el estudio de la biodisponibilidad -- del fármaco, mediante su liberación desde la forma galénica y la posterior difusión a través de la barrera cutánea.

(continuación)

MÉTODOS

APLICACIONES

4) Evaluación directa de los efectos de superficie

4.2) Por métodos físicos (121,97,122)

- Coloración de la piel
- Retención por la piel de ciertos compuestos
- Grado de hidratación de la piel

5) Detección química del p.a. en tejidos o fluidos orgánicos:

- sangre (124,125,126,127)
- orina/heces (55,64,126,127,128)
- órganos concretos (60,129)

En general, todos ellos estudian la influencia del excipiente en los fenómenos de absorción percutánea

**Comentarios**

Los métodos centrados en la determinación de la cantidad de principio activo que queda en la piel, como índice de la velocidad de absorción, adolecen del inconveniente de que las cantidades que penetran son tan pequeñas que se suelen asemejar a los errores analíticos que pudieran cometerse en su determinación, por lo que los resultados que proporcionan no son a veces fiables.

Por su parte los métodos histológicos estarán indi-

(continuación)

MÉTODOS

APLICACIONES

4) Evaluación directa de los efectos de superficie

4.2) Por métodos físicos (121,97,122)

- Coloración de la piel
- Retención por la piel de ciertos compuestos
- Grado de hidratación de la piel

5) Detección química del p.a. en tejidos o fluidos orgánicos:

- sangre (124,125,126,127)
- orina/heces (55,64,126,127,128)
- órganos concretos (60,129)

En general, todos ellos estudian la influencia del excipiente en los fenómenos de absorción percutánea

**Comentarios**

Los métodos centrados en la determinación de la cantidad de principio activo que queda en la piel, como índice de la velocidad de absorción, adolecen del inconveniente de que las cantidades que penetran son tan pequeñas que se suelen asemejar a los errores analíticos que pudieran cometerse en su determinación, por lo que los resultados que proporcionan no son a veces fiebles.

Por su parte los métodos histológicos estarán indi-

cados para aquellos compuestos que sean fluorescentes (ic-  
tomol, tetraciclina...) y no así para aquellos en los que  
se produzca coloración o fluorescencia en virtud a una - -  
reacción química, ya que estas uniones que desencadenan ta  
les efectos físicos se disocian con frecuencia dentro del-  
organismo, no sirviendo como indicadores de la penetración.

El resto de estos métodos histológicos son fiables,  
aún siendo la mayoría cualitativos, pero de difícil monta-  
je.

Dentro de los métodos de evaluación directa de los-  
efectos de los fármacos que penetran con los basados en la  
observación de los efectos fisiológicos se demuestra que -  
la sustancia pasa la barrera cutánea al ejercer una acción  
farmacológica, pudiendose incluso determinar el tiempo pa-  
ra provocarla o la influencia que sobre aquella tienen de-  
terminados productos dermatológicos. Sin embargo, su incon-  
veniente principal es el que se aplican todos estos tests-  
sólo a sustancias de las que es posible poner de manifies-  
to sus efectos farmacológicos.

Sin embargo con la evaluación de estos efectos, pe-  
ro por métodos físicos, se consiguen ver las modificacio -  
nes bioquímicas producidas en la piel por aplicación de de  
terminadas sustancias, por espectrocopia, reflexión múlti-  
ple, etc., que permiten registrar "in situ" el espectro de  
la piel. Por otro lado a partir del análisis térmico cutá-

neo se puede saber el flujo sanguíneo, o bien el grado de hidratación de la piel. Aún así estos métodos físicos presentan el inconveniente de que quedan relegados para fármacos con fuerte actividad biológica.

Por último, mediante la detección química del principio activo bien sea en tejidos o fluidos orgánicos se puede evaluar la dependencia o no de un determinado fármaco con su vehículo frente a una mayor o menor capacidad de cesión por parte de éste. Sin embargo, son métodos indirectos de la penetración y absorción percutáneas, estudiándose con ellos aspectos biofarmacéuticos aislados de un principio activo, no dando idea global del proceso del LADME.

**MATERIAL METODO Y  
TECNICAS**

**PRINCIPIOS ACTIVOS**

## I PRINCIPIOS ACTIVOS

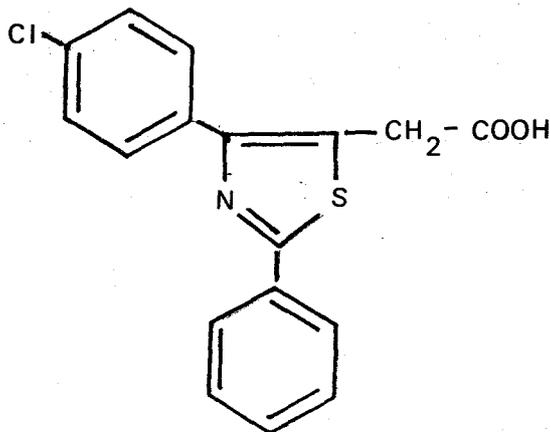
En todas las experiencias desarrolladas por nosotros y que conforman la presente Memoria, se utilizaron los mismos principios activos, de cuya naturaleza química no esteroidea se desprenden acciones farmacológicas, anti-inflamatorias preferentemente, que los hacen idóneos para paliar las lesiones que habitualmente se localizan en o de bajo de la piel, a la vez que no tienen los efectos colaterales indeseables de otros compuestos que se utilizan para conseguir la misma actividad terapéutica: corticosteroides.

## I.1 Fentiazac ácido (\*)

Químicamente es el ácido 2-fenil-4-p-clorotiazol-5-il acético. Fórmula molecular:  $C_{17}H_{12}ClNO_2S$

Peso molecular: 329,8

Fórmula desarrollada:



Dentro de la serie de derivados del ácido 2-4-difenil-tiazol-5 il acético es el agente antiinflamatorio más activo (130,131,132).

Se presenta como un polvo microcristalino blanco o amarillento e inodoro. Con punto de fusión de 155-157 °C - recristalizado en solución acuosa de etanol.

Insoluble en agua, éter de petróleo, éter etílico, - hexano, ciclohexano, etc. Soluble en metanol, benceno y en soluciones debilmente alcalinas (NaOH ó  $CO_3Na$ ).

(\*): LPB, Lección de investigación. Instituto farmacéutico S.P.A. CINESELLO BALSAMO (Milán - Italia)

Las soluciones metanólicas del producto patrón presentan dos picos de extinción máxima en las longitudes de onda de 310 y 244 nm y un mínimo a 277 nm.

El fármaco administrado por vía oral posee una actividad analgésica y antiinflamatoria (133) significativamente superior a la Indometacina (134). Además, entre otras, posee propiedades antiedematosa y antigranulomatosa, similares a las de Indometacina y superiores a las de A.A.S., Fenilbutazona e Ibuprofen (131,135); actúa también como antipirético, siendo su poder estadísticamente superior al de Indometacina (134).

El fentiazac ácido presenta como metabolito principal al ácido 2-p-hidroxifenil-tiazol-5 il acético (136) — con actividad antiinflamatoria inferior a la del principio activo.

La actividad farmacológica desarrollada por este principio activo ha sido estudiada para diferentes vías de administración (133) demostrándose en todos los casos su buena tolerancia por el organismo incluso en tratamientos prolongados (137)

En las aplicaciones tópicas su actividad antiinflamatoria se corrobora ya que los niveles plasmáticos de este fármaco son lo suficientemente elevados (125) como para

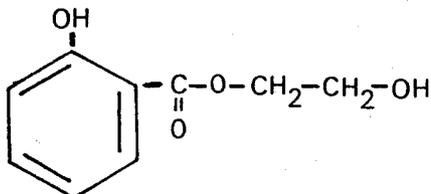
ejercer esta acción en zonas del organismo aún estando lejos del lugar de administración. Incluso a veces la vía percutánea es preferente a la oral en aquellos tratamientos de las zonas subyacentes al área tratada -capas profundas de la piel, tejido subcutáneo, músculo esquelético- ya que en estas zonas se ha comprobado (129) una mayor concentración de principio activo no transformado.

### I.2 Monosalicilato de etilenglicol (\*).

Es el éster 2-hidroxiético del ácido 2-hidroxibenzoico, derivado, pues, del A.A.S. Fórmula molecular:

$C_9H_{10}O_4$ . Peso molecular: 182,17

Fórmula desarrollada:



A temperatura normal se presenta como un líquido, de aspecto oleoso, casi inodoro e incoloro. En reposo durante tiempo prolongado y a temperatura inferior a 20 °C, se producen cristalizaciones paulatinas, pudiéndose invertir tal fenómeno al calentar la sustancia en b.m.

Es poco soluble en agua -alrededor de 1 p en 100 p-

(\*) Laboratorios RHÔNE-POULENC (Francia)

y en bencina de petróleo, soluble en aceite de oliva -1 p / en 8 p- fácilmente soluble en acetona, etanol, éter y cloroformo. Miscible en aceite de parafina y otros compuestos hidrófobos. Es prácticamente soluble en la mayoría de los aceites esenciales.

Su administración por vía cutánea produce, entre -- otros, efectos analgésicos y antiinflamatorios. Sus soluciones alcohólicas u oleosas están indicadas en el tratamiento de dolores reumáticos y en general de algias musculares.

Sus metabolitos principales son:

- Acido gentísico
- Acido uraminosalicílico

Derivados glico y glicuro-conjugados.

## **PREPARADOS TOPICOS**

## II PREPARADOS DERMATOLÓGICOS

### II.1 Excipientes utilizados

En la formulación de las pomadas se han usado tres bases dermatológicas (138): emulsión oleoacuosa, excipiente anhidro-hidrosoluble y gel acuoso.

La elección de estos excipientes se ha realizado — por tener en común todos ellos un contenido acuoso apreciable —emulsión O/A y gel acuoso— o bien la característica — de hidrosolubilidad —excipiente anhidro— queriendo con esto ver las posibles diferencias entre ellos, en cuanto a — las investigaciones planteadas, para poder correlacionar — las, en trabajos futuros, con otros vehículos de naturale-

za distinta.

## II.1.1 Fórmulas y técnicas preparatorias

### II.1.1.1 Emulsión oleoacuosa

SEDEFOS <sup>R</sup> -75 (*) .....	18 p
Aceite de vaselina .....	10 p
Propilenglicol .....	28 p
p-hidroxibenzoato de metilo .....	c.s.
Agua purificada c.s.p. ....	100 p

En b.m. (75 °C) fundir todos los componentes, retirar del baño y bajo agitación constante seguir hasta enfriamiento.

### II.1.1.2 Excipiente anhidro hidrosoluble

Polietilenglicol 400 .....	71,0 p
Polietilenglicol 4000 .....	28,5 p

Fundir en b.m. (70 °C); el PEG 4000 junto con el PEG 400. Retirar y agitar hasta enfriamiento.

---

(\*) Palmítoestearato de glicol asociado a un fosfato de alcoholes grasos polioxietilénicos, como emulgente. Excipiente autoemulsionable aniónico.  
Fabricante: GATTEFOSSE, Francia

### II.1.3 Gel acuoso

CARBOPOL <sup>R</sup> -934 (*) .....	3,7 p
Glicerina .....	25,0 p
Alcohol 96° .....	28,0 p
Trietanolamina c.s. (para pH=6.8)	
Agua purificada c.s.p. ....	100 p

Embeber el Carbopol en parte del agua. Añadir la glicerina, resto de agua, alcohol y conservador. Añadir la trietanolamina, dejar reposar y por último agitar cuidadosamente.

### II.2 Incorporación de las sustancias activas

- Monosalicilato de etilenglicol:

Emulsion O/A: se disolvió en el aceite de parafina

Excipiente anhidro-hidrosoluble: se disolvió en

PEG 400

Gel acuoso: se disolvió en el alcohol de 96°

En todos ellos el p.a. quedó en concentración del 5% emulsionado en la base oleoacuosa y en solución en las otras dos.

---

(\*) Polímero carboxipolimetilénico de elevado Pm. Fabricante: B.F. GOODRICH CHEMICAL COMPANY. Inglaterra.

- Fentiazac ácido:

Emulsión O/A: se dispersó en el aceite de parafina

Excipiente anhidro-hidrosoluble: quedó disuelto en  
el PEG 400

Gel acuoso: se disolvió en el alcohol de la fórmula

El p.a. en concentración del 5% quedó en solución -  
en gel acuoso y excipiente anhidro y en suspensión en la -  
base O/A.

Una vez formuladas las pomadas se mantuvieron en re  
poso, (18 °C), durante las 48 h previas a cada una de las-  
experiencias.

### II.3 Ensayos de dosificación

Con objeto de asegurar la exacta concentración de -  
los principios activos dentro de las pomadas, se efectuó -  
la valoración de los mismos mediante la técnica espectrofo  
tométrica.

#### II.3.1 Pomadas de Monosalicilato de etilenglicol

a) Excipiente anhidro-hidrosoluble y gel  
acuoso.-

Se pesaron exactamente 50 mg del preparado que se disolvieron en agua destilada, valorándose el líquido resultante por espectrofotometría U.V. (303 nm) frente a un blanco obtenido a partir de excipiente solo tratado de igual forma.

#### b) Emulsión oleoacuosa

En ampolla de decantación se dispuso una muestra de la pomada (50 mg) y 20 ml de cloroformo, agitándose y extrayéndose a continuación el p.a. con 3 x 10 ml de agua destilada. Los extractos acuosos reunidos se valoraron por espectrofotometría U.V. (303 nm) frente a un blanco formado a partir de excipiente solo tratado de igual manera.

#### II.3.2 Pomadas de Fentiazac ácido

En todos los casos se tomó 50 mg del preparado efectuándose la extracción bencénica del principio activo. Posteriormente se valoró por espectrofotometría U.V. (308 nm) frente a un blanco formado por excipiente solo tratado de idéntica manera.

## ENSAYOS "IN VITRO"

### III ENSAYOS IN VITRO

Las investigaciones desarrolladas según la metodología "in vitro" se han centrado, por un lado, en el estudio de la capacidad de cesión de los fármacos por parte de los excipientes mediante el uso de soportes sólidos y, por -- otra, la cesión de aquellos a través de una membrana biológica. El fin era apreciar con ambos procedimientos la mayor o menor tendencia de las sustancias activas para dejar a sus vehículos pues estos dos aspectos completan la investigación de la influencia del vehículo en un preparado galénico.

### III.1 Estudio de la liberación medicamentosa

#### III.1.1 Material

- Placas Petri (85/15 mm)
- Papel vegetal (DIAMANT "2611 1/4 Sat" EXAKTOR transparente. Ref. 307

#### Reactivos:

- Cloruro férrico hexahidratado
- Púrpura de bromocresol
- Azul de bromotimol
- Rojo fenol

#### Aparatos

- Estufa (SELECTA Mod 204)
- Refrigerador KELVINATOR Mod foodorama, K-55)
- Baño termostataado (SELECTA)
- Balanza de precisión (METTLER Mod 480)

#### III.1.1.1 Soporte de difusión

Como tal se emplearon placas Petri en las que se extendieron capas de gelosa-reactivo de espesor constante- - (5 mm).

El estudio de la liberación medicamentosa fue esencialmente cualitativo, es decir, por simple percepción y - medida del diámetro de los halos coloreados producidos en-

el medio receptor (agar-reactivo) por el p.a. al difundir por todo su espesor. Por ello la técnica seguida en la preparación del soporte fue diferente para cada uno de los principios activos, si bien siempre estuvo en función de las propiedades específicas de cada uno de ellos.

En el caso del Monosalicilato de etilenglicol se usó agar-solución de cloruro férrico (10%), debido a que los derivados salicilados provocan una fuerte reacción coloreada -violeta- con las sales férricas.

Para el estudio cualitativo de la liberación del fentiazac ácido se empleó agar-solución indicadora ácido-base, precisamente por el carácter ácido del p.a. Para el se realizaron ensayos con algunas de estas soluciones indicadoras:

<u>REACTIVOS</u>	<u>CAMBIO DE COLOR EN FUNCION DEL pH</u>	
Púrpura de bromocresol (0,4 % P/V)	AMARILLO 5,2	PURPURA 6,8
Azul de bromotimol (0,4 % V/V)	ROJO 4,4	AMARILLO 6
Rojo fenol (0,2 % V/V)	AMARILLO 6,8	ROJO 8,4

TABLA I

La técnica preparatoria siempre fué la misma: disolver el reactivo en alcohol de 95 %. Añadir agua. Filtrar.

La solución de púrpura de bromocresol proporcionó - mejores resultados en cuanto a la visualización del proceso.

### Preparación del soporte

#### III.1.1.1.1 Monosalicilato de etilenglicol

##### Fórmula:

Agua destilada .....	250 ml
Agar .....	3,75 g
Sol. $\text{Cl}_3\text{Fe} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 % P/V) ..	2,50 ml

En el agua de la fórmula se embebió el agar. Después se llevó a fuego directo hasta fusión completa. Cuando la temperatura de la mezcla fué aproximadamente 40 °C, se añadió la solución de cloruro férrico, seguidamente se extendieron las placas, dejando enfriar su contenido, con lo que el agar gelificó.

#### III.1.1.1.2 Fentiazac ácido

##### Fórmula:

Agua destilada .....	250 ml
Agar .....	3,75 g
Sol. Púrpura de bromocresol (0,4 % P/V) .....	10,00 ml

El agar se dejó junto al agua de la fórmula en reposo, con el fin de que se embebiera. Después, en frío, se adicionó el reactivo, llevándose la mezcla a fuego directo hasta fusión del agar, vertiéndose seguidamente sobre las placas, dejando enfriar el contenido para conseguir la gelificación.

### III.1.2 Metodo

Han sido varios los dispositivos descritos para los estudios de liberación "in vitro" (pg.67 y siguientes).

En el presente estudio se eligió un método por el que se percibe la liberación de los principios activos, -- desde sus vehículos, a través de un soporte sólido constituido por agar-reactivo, constituyendo una modificación de la técnica seguida por BILLUPS y SAGER (87), si bien ambos métodos tienen su fundamento en el procedimiento ideado -- por IZGU y LEE (140).

Se tomaron cinco placas de agar-reactivo para cada uno de los tiempos en que se efectuaron las lecturas, realizando este ensayo con los dos principios activos incluidos en las distintas bases dermatológicas.

En todos los casos se practicó en el soporte una -- oquedad de 5,5 mm de diámetro por 4 mm de profundidad, al-

tiempo que se rellenó con la pomada objeto de estudio, de tal manera que la muestra depositada fue siempre de 95 ul.

### III.1.3 Técnica

Los diámetros de los halos coloreados se midieron - con ayuda de papel vegetal transparente y milimetrado, en los tiempos de 1, 4, 6, 12, 18 y 24 h de haber depositado la muestra y a las temperaturas de 4, 18 y 40 °C para cada uno de los tiempos de lectura, con objeto de apreciar la - posible influencia de la temperatura en el proceso de liberación, además del tiempo y naturaleza del excipiente.

## III.2 Estudio de la difusión a través de membrana biológica

### III.2.1 Material

Célula de difusión.

Aparatos:

Baño termostático (SELECTA ULTRATERM Mod. 383)

Agitador (HEIDOLPH Mod. RZR.2)

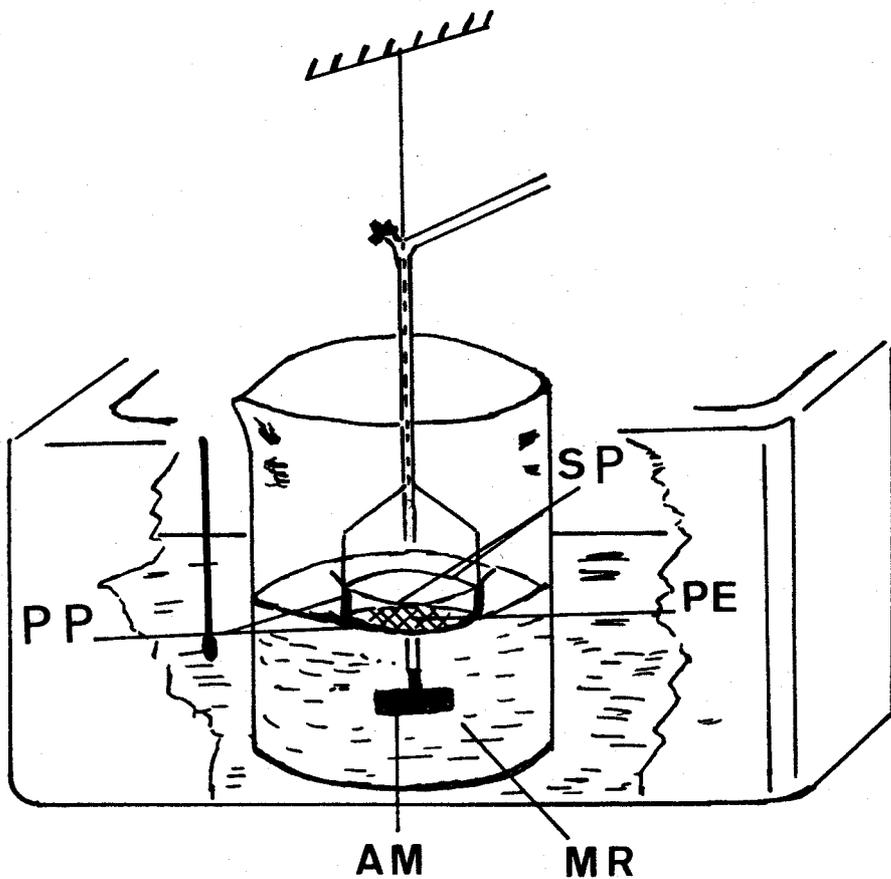
Espectrofotómetro (VARIAN-TECHTRON U.V.-VIS Mod 365)

Reactivos:

Solución salina fisiológica (0,9 % P/V ClNa)

Solución de hidróxido sódico, diluida, 0,005 N

# CELULA DE DIFUSION



**SP** SOPORTE PIEL    **PE** PREPARADO A ENSAYAR

**MR** MEDIO RECEPTOR    **AM** AGITADOR MECANICO

**P.P** PIEL PORCINA

FIG. 2

### III.2.1.1 Célula de difusión

Las investigaciones se llevaron a cabo con una célula de difusión diseñada (Fig. 2) y construida por nosotros basándonos en la de AINSWORTH (94). Consta de:

- Soporte de la piel en material plástico hueco y - cilíndrico con 2,5 cm de diámetro por 2 cm de profundidad.
- Piel porcina liofilizada (\*), con superficie útil de 4,9 cm<sup>2</sup>.
- Abrazaderas metálicas para la sujeción de la piel.
- Baño termostático a  $37 \pm 1$  °C, con circulación continua de agua.
- Frasco de vidrio con 150 ml de solución salina fisiológica (fase receptora) del que se efectuaron las tomas de muestra.
- Agitador mecánico a 33 r.p.m., del compartimiento receptor.

### III.2.2 Método

Dentro de los estudios encaminados a dilucidar los procesos de penetración percutánea, los métodos "in vitro" han utilizado diferentes procedimientos en los que por el-

(\*) Piel de cerdo liofilizada "LYODERM"<sup>R</sup>. ARMOUR PHARMACEUTICAL Co. Ltd. (Inglaterra).

uso de "celulas de difusión" se abordan los mecanismos de liberación de diferentes compuestos a través de membranas biológicas (90,95), mientras que otros investigadores usan piel fresca de animales para el mismo fin (81,94,95), o -- bien, piel humana extraída de cadáveres (44,72,85,86,95,96)

En nuestro estudio se utilizó piel porcina liofilizada como membrana biológica de difusión que aporta la ventaja de conservar las dos capas cutáneas, epidermis y dermis, en un mínimo espesor.

En clínica su uso está indicado como apósito biológico temporal, siendo efectivo frente a daños cutáneos por traumatismo, quemaduras, pérdida parcial del tegumento, etc.

Además presenta una ventaja muy importante para este tipo de investigaciones cual es su larga vida media, 2-años, circunstancia aprovechable, puesto que los peligros de desnaturalización por putrefacción que pudieran surgir con las demás membranas naturales usadas hasta ahora, no se manifiesta con esta piel debido al tratamiento de liofilización al que está sometida.

Por otra parte esta membrana responderá frente a -- las sintéticas de una forma más próxima a la realidad.

En el montaje de la célula se procedió como sigue:

Una vez reconstituida la piel por inmersión momentánea en solución salina fisiológica se extendieron sobre su superficie 0,167 g de pomada a ensayar, es decir, 1,7 mg de p.a. por cm<sup>2</sup> de piel, acoplando dicha preparación en el soporte ideado, en el que quedó firmemente sujeto por las abrazaderas metálicas.

Seguidamente, la cara interna de la piel -zona dérmica- quedó en contacto con la solución fisiológica que actuó como compartimento receptor o dérmico.

La fase receptora, en volumen de 150 ml, se mantuvo a  $37 \pm 1$  °C durante toda la experiencia y siempre bajo agitación constante -33 r.p.m.- para conseguir una concentración uniforme de la sustancia difundida en dicho compartimiento. Fue en éste donde se realizaron las tomas de muestra -1,5 ml en el caso de la difusión del fentiazac ácido- y 4 ml en el del monosalicilato de etilenglicol- que fueron cada 15 minutos durante la primera hora y tras 30' en las dos restantes que duró la experiencia.

En cada tiempo de toma de muestra se restableció el volumen inicial de la fase receptora con solución salina fisiológica, en cantidad igual al de la muestra recogida, siguiendo de esta forma la técnica de los modelos abiertos discontinuos (82,83), realizándose para cada una de las pomadas seis experiencias de difusión.

### III.2.3 Técnicas de valoración

#### III.2.3.1 Monosalicilato de etilenglicol

La valoración de la fracción difundida de este principio activo en función del tiempo se realizó por espectrofotometría de U.V. en la longitud de onda de 303 nm, apoyándonos en investigaciones precedentes y recogidas en diferentes publicaciones (141,142,143) a partir de cuyos valores se calcularon las concentraciones de fármaco ( $\mu\text{g/ml}$ ) mediante la curva patrón correspondiente (véanse resultados tabla 19, fig. 9 )

#### III.2.3.2 Fentiazac ácido

Efectuada una revisión bibliográfica del año 1976 - al 1983 en cuanto a los métodos usados en la determinación de las cantidades liberadas de fentiazac ácido, no se han encontrado referencias en cuanto a la realización de experiencias "in vitro".

En nuestro estudio, la detección de la fracción difundida de este fármaco en función del tiempo, se ha realizado por espectrofotometría U.V. en la longitud de onda de 244 nm, ya que por estudios previos (144) quedó establecido el rango de concentraciones de producto patrón que pre-

sentaron linealidad frente a las correspondientes extinciones. Esta fue la condición previa para el desarrollo posterior de nuestras investigaciones, a partir de lo cual cada una de las muestras -1,5 ml de solución receptora- se trató con 2,5 ml de solución diluida de hidróxido sódico - 0,005 N con objeto de asegurar la solubilización de las trazas que de este fármaco difundieron, cuyas concentraciones se obtuvieron al llevar los valores de extinción obtenidos sobre la correspondiente curva patrón (Tabla 8; fig. 6.)

#### III.2.3.2.1 Pruebas de validación del método

Se realizaron diluciones seriadas del producto patrón con solución de NaOH 0,2 N en solución salina fisiológica (concentraciones de 0,6 a 23,8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). De forma paralela se hicieron las diluciones correspondientes al blanco respectivo, con la solución inicial de NaOH 0,2 N en solución salina fisiológica.

La solución de 23,8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de producto patrón presentó en el espectro U.V. dos picos de extinción máxima en las longitudes de onda de 244 y 310 nm y un mínimo a 277 nm, con valores de extinción de 1,635, 1,146 y 0,979 respectivamente. Las extinciones presentadas por las distintas diluciones se midieron frente al blanco correspondiente en la longitud de onda de extinción máxima (244 nm).

Con objeto de asegurar la viabilidad del método, -- así como para reducir al máximo los posibles errores técnicos se siguió el procedimiento que a continuación se indica:

Las diluciones de la solución patrón y blanco se realizaron durante diez días consecutivos, anotándose las extinciones que presentaron (Día a Día ó D.D.). Al mismo tiempo, cada día se efectuó una solución patrón coincidente en concentración con una dilución de la serie. Esta operación se repitió por diez veces cada vez, anotándose de igual modo las extinciones obtenidas en ese día (Entre Días ó E.D.)

Las extinciones para cada una de las diluciones según el D.D. y E.D. se sometieron a un tratamiento estadístico referido a muestras pequeñas con datos independientes: media aritmética, desviación estándar, varianza, intervalo de confianza y prueba de comparación de las medias de ambas muestras (extinciones en el D.D. y E.D.) (145,146).

Se planteó también hallar la ecuación de la recta de regresión a partir de los datos experimentales, de que entre las posibles se apartara menos de los puntos observados, para cuyo cálculo estadístico se siguió el método de los mínimos cuadrados (147), considerando como variable dependiente y sujeta a error las extinciones y como independiente las concentraciones; igualmente, se expresó el gra-

do de relación entre ambas variables por el cálculo del -- coeficiente de correlación "r" (147).

Todos los datos obtenidos en este estudio quedan re cogidos en el apartado de resultados, pág. 126 Fig.6

### III.2.4 Pruebas estadísticas

Los resultados obtenidos para cada principio activo, en función de la base dermatológica, fueron sometidos a un tratamiento estadístico.

#### III.2.4.1 "Análisis de la varianza" (155)

Esta técnica permite la comparación entre varias me dias observadas, recibiendo tal denominación por basarse - en el cálculo de la varianza entre dichas medias (difusión de ambos principios activos en cada uno de los excipientes a los tiempos inicial, medio y final del proceso), con ob- jeto de comprobar estadísticamente la existencia o no exis tencia (rechazo de la hipótesis nula) de diferencias signi ficativas entre los grupos de pomadas estudiados.

### III.2.4.2 Prueba de Scheffé (156)

Cuando en el análisis de la varianza se llega a la conclusión de que el conjunto de las medias difieren entre sí (rechazo de la hipótesis nula) es de interés realizar - comparaciones individuales entre estos grupos, pues pudiera ocurrir que no todos sean diferentes entre sí sino que sólo algunos de ellos sean estadísticamente significativos de otros.

En este estudio se ha aplicado el método de Scheffé basado en la comparación de contrastes.

### III.2.4.3 Determinación de la significación entre dos medias con muestras pequeñas (146).

Con la aplicación de esta prueba se tiende a establecer estadísticamente la existencia o inexistencia de diferencias significativas en el comportamiento de un fenómeno observado: difusión del fentiazac ácido y monosalicilato de etilenglicol una vez formulados en una misma base -- dermatológica.

# ENSAYOS BIOFARMACEUTICOS

#### IV ENSAYOS BIOFARMACEUTICOS

##### IV.1 Material

- Afeitadora (AESCULAP BASANT. Typ.:64-34/134)
- Jaulas metabólicas (Mod. JC-0315)

##### Aparatos:

- Centrífuga angular (SELECTA Mod. S240)
- Agitador vibrador (HEIDOLPH SELECTA)
- Bolsas de diálisis (Dialysis "sacks". SIGMA 250)
- Refrigerador (KELVINATOR Mod Foodarema K-55)
- Baño termostático (SELECTA)
- Espectrofotómetro U.V.-VIS (VARIAN TECHTRON Mod. 365)

- Registrador (VARIAN TECHTRON Mod. 135 A)
- Peachímetro (CORNING pHmeter-125)

Reactivos:

- Eter etílico (PANREAC)
- Benceno (PANREAC)
- Dilución amoniacal (2 % P/V)
- Solución salina fisiológica
- Solución de ácido nítrico (0,5 N)
- Solución de nitrato férrico:

Nitrato férrico ..... 10 g  
 Acido Nítrico (0,5 N) ..... 4 ml  
 Agua destilada, c.s.p. .... 1000 ml

Animales de experimentación:

Ratas hembras, albinas, de la misma camada, raza WISTAR de peso medio aproximado de 200 g (208,75).

#### IV.2 Método

La metodología seguida siempre estuvo en función de la finalidad perseguida: el estudio de las curvas acumulativas de excreción urinaria de cada p.a. a partir de sus diferentes vehículos, para obtener en cada caso, la cantidad total excretada a través del tiempo.

Para ello se tomó un lote de ratas, a razón de cinco individuos para cada uno de los tiempos en que se practicaron las tomas de orina.

Los animales permanecieron a dieta alimenticia y -- agua "ad libitum" durante el día anterior del comienzo de cada experiencia, permaneciendo durante todo este tiempo -- encerradas en sus jaulas. La orina de estas 24 horas se to mó posteriormente como blanco de las medidas realizadas, -- previo tratamiento correspondiente.

El día de la experiencia a cada uno de los animales se le anestesió brevemente por inhalación de éter etílico-- con el fin de realizar en condiciones idóneas las tareas -- de afeitado que se practicó en la región cervical, en una-- superficie de  $9 \text{ cm}^2$ , con sumo cuidado para no erosionar la piel, mediante una afeitadora especial y plantilla de igual superficie hueca. Esta tarea se prosiguió siempre hasta ra surado completo de la mencionada zona.

Seguidamente se aplicó en esta región y a cada ani-- mal 4 g de pomada/Kg de peso, equivalente a 41,75 mg de -- principio activo, extendiendo el preparado con un masaje -- suave que siempre se realizó con guantes aislantes de la -- piel del operador. Después se devolvieron los animales a -- sus respectivas jaulas y se comenzó a medir el tiempo con-- el fin de realizar las tomas de orina con exactitud a las-- 3, 6, 9, 12, 15, 24 y 33 horas de haber administrado el -- preparado, anotándose los volúmenes correspondientes. Los-- animales quedaron durante el tratamiento en ayunas y agua-- "ad libitum".

### IV.3 Técnicas de valoración

#### IV.3.1 Monosalicilato de etilenglicol

Cada muestra de orina se sometió a un proceso de — centrifugación con el fin de eliminar partículas extrañas. Los líquidos sobrenadantes se reservaron para practicar en ellos el análisis del fármaco excretado, cuya valoración — se efectuó sobre el ión salicílico total obtenido tras la hidrólisis del Monosalicilato de etilenglicol libre y conjugado, siguiendo así la técnica cuyo fundamento propusiera GALIMARD (148,149) para la valoración del salicilato só dico.

De las orinas recogidas en cada tiempo y para cada — pomada se tomó 1 ml que se trató con igual volumen de dilu — ción amoniacal (2 % P/V) y tras agitar la mezcla en tubo — cerrado se mantuvo en b.m. (90 °C) durante una hora, con — objeto de provocar la hidrólisis del principio activo inal — terado, como la de sus metabolitos.

Transcurrido este tiempo, los 2 ml de hidrolizado — se agitaron mecánicamente y se introdujeron en bolsas de — diálisis que cerradas por sus dos extremos se sumergieron — en 20 ml de solución salina fisiológica durante 18 horas — con lo cual el ión salicílico difundió a través de este me — dio.

Pasado este tiempo, se tomaron 3 ml del dializado, procediéndose a la medida del pH, adicionándose en cada caso cantidad suficiente de ác. Nítrico 0,5 N hasta llegar a la neutralidad. Seguidamente sobre cada muestra se dispusieron 0,3 ml de solución de  $(\text{NO}_3)_3\text{Fe}$  al 1 %, valorando -- las coloraciones aparecidas cuantitativamente por colorimetría mediante las extinciones que presentaron en la longitud de onda de 520 nm, frente a blanco formado por orina -- sin tratar y sometida a igual proceso extractivo que la -- orina a valorar.

#### IV.3.2 Fentiazac ácido

Dentro de las determinaciones cuantitativas de fentiazac ácido en fluidos orgánicos o de distribución en los distintos órganos, se observa que los procedimientos fundamentales seguidos por los investigadores se basan en las técnicas fotodensitométricas, en el máximo de extinción de 302 nm, tras cromatografía en capa fina de la muestra -- (125); por cromatografía de gases o bien por evaluación -- cuantitativa de la radioactividad que presentan órganos y líquidos biológicos tras la aplicación de pomadas formuladas con  $^{14}\text{C}$ -Fentiazac (129).

En nuestro caso la evaluación biofarmacéutica de -- las cantidades excretadas de fentiazac ácido, a lo largo -- del tiempo, se realizó por espectrofotometría U.V. al igual

que ocurriera en los ensayos "in vitro", pero en la longitud de onda de 308 nm, previa la extracción bencénica del fármaco.

El proceso de extracción seguido se fundamentó en la solubilidad del fentiazac ácido en benceno, disolvente que presenta dos bandas de extinción intensa en la proximidad de 180-200 nm y una débil en torno a 260 nm (150).

Se realizaron pruebas encaminadas a apreciar la posible solubilización en benceno de algún componente de la orina, dando como resultado la no interferencia, por bandas de absorción extrañas, al menos en el rango seleccionado, que se estableció precisamente entre 340 y 280 nm, teniendo en cuenta los resultados de "barridos" previos, tanto con benceno frente extracción bencénica urinaria (sin tratar) como los correspondientes a benceno frente a agua.

La longitud de onda se seleccionó en función de las pruebas que se hicieron con las extracciones bencénicas de orinas procedentes de animales tratados frente a benceno, ya que se apreció que las extinciones obtenidas constituían una meseta en el rango de 340 - 280 nm, con un leve máximo en torno a los 308 nm siendo en esta longitud de onda - en la que se obtuvo tanto la curva patrón como el resto de las medidas realizadas, según la técnica que sigue:

Las orinas recogidas, en cada tiempo y para cada pg

mada, se sometió a un proceso de centrifugación para eliminar impurezas. El sobrenadante se recogió en su totalidad anotándose en cada caso el volumen correspondiente, del — que se tomaron cantidades siempre constantes para tratar — las con igual volumen de benceno, extrayendo así el principio activo existente en las orinas.

Una vez separada la fase bencínica, se procedió en ella a la evaluación del fármaco excretado, a partir de — las extinciones aparecidas en la citada longitud de onda.

#### IV.3.2.1 Pruebas de validación del método

Con anterioridad a los ensayos que hemos señalado, — se realizaron una serie de diluciones bencénicas del pro — ducto patrón con concentraciones de 15,63 a 0,49  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , a — partir de una solución patrón madre compuesta de 5 mg de — fentiazac ácido disueltos en 40 ml de benceno.

La solución con 15,63  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de producto patrón pre — sentó en el espectro U.V. un máximo a 308 nm y un mínimo a 330 nm, coincidiendo fielmente estos resultados con los posteriormente realizados y a los que ya hemos aludido.

Con objeto de disminuir los posibles errores técni — cos y asegurar la reproductibilidad del método se procedió

igual que en los ensayos in vitro como a continuación se indica:

Se realizaron durante cinco días consecutivos las diluciones de la solución patrón anotándose en cada caso las extinciones presentadas (308 nm) (D.D.). Al mismo tiempo cada día se efectuó una solución patrón coincidente en concentración con una de la serie; repitiéndose la operación por cinco veces y anotándose en cada una de ellas las extinciones correspondientes a ese día (E.D.).

Siempre se utilizó como blanco benceno puro, al superponerse tanto los espectros de éste con los de la extracción bencénica de las orinas procedentes de animales sin tratar en la zona escogida (280-340 nm), dentro de la que se realizaron todas las medidas.

Con objeto de comprobar estadísticamente la validez del método espectrofotométrico para el fentiazac ácido, esta vez a partir de su eliminación en fluidos orgánicos, las extinciones para cada una de las diluciones según el D.D. y E.D. se sometieron a un tratamiento referido a muestras pequeñas con datos independientes: media aritmética, desviación estándar, varianza, intervalo de confianza y prueba de comparación de las medias en ambas pruebas -extinciones en el D.D. y E.D.- (145,146).

Se planteó también hallar la ecuación de la recta -

de regresión a partir de los datos experimentales, que de entre las posibles se apartara menos de los puntos observados, y que nos permitiera el cálculo de las cantidades continuas de fentiazac excretado al trasladar los resultados sobre dicha curva, patrón de referencia. Para su cálculo estadístico se siguió el método de los mínimos cuadrados (147); igualmente se expresó el grado de relación entre ambas variables -extinciones/concentraciones- por cálculo del coeficiente de correlación "r" (147).

Todos los datos extraídos en este estudio quedan recogidos en el apartado de resultados (pág 150 y sg , fig.13)

**ESTUDIO DE  
EXTENSIBILIDAD**

## V ESTUDIO DE EXTENSIBILIDAD

### V.1 Material

- Microtomo manual tipo RANVIER
- Caja Petri (50 g)
- Juego de pesas (100, 150, 300 y 500 g)
- Cámara fotográfica (OLYMPUS)
- Carrete fotográfico en blanco y negro (PANATOMIC-KODAK)
- Amplificadora fotográfica (DURST-DA900)
- Filtro de luz (UNICON-50)
- Papel fotográfico, normal, 17,8 x 24 (NEGRA)
- Planímetro (STAEDTLER-MARS 927)

## V.2 Método

Para la preparación del soporte se siguió el método descrito con anterioridad por algunos investigadores (151) y que ha sido seguido y modificado convenientemente en algunos de nuestros trabajos (152,153), realizándose sobre un microtomo manual, destinado para cortes histológicos de tejidos vegetales, cuyas características son: platina perfectamente plana con 5 cm de diámetro, hueco de tornillo, 1,2 cm y paso de rosca 0,69 mm.

El tornillo micrométrico se colocó en la posición nº 9 correspondiente a nueve vueltas completas del mismo, desde su posición cero- rellenándose la oquedad producida tanto con los excipientes como con las pomadas de uno y otro principio activo, tras de lo cual se colocó sobre la platina un cristal de igual diámetro, procediéndose al giro del tornillo en sentido contrario hasta la posición nº 5 retirando posteriormente el vidrio por deslizamiento y eliminando de éste y platina los restos de producto. Esta operación tuvo la finalidad de eliminar las posibles burbujas de aire ocluidas en los preparados y excipientes, evitando así posibles errores de determinación.

Por último el tornillo se elevó hasta la posición cero, con lo que quedaron a un mismo nivel éste y platina, formándose un cilindro de producto por encima del nivel de la platina, instante en que se colocaron sobre dicho cilin

dro de muestra  $-0,31 \text{ cm}^3$  - la caja Petri (50 g), que por tener dimensiones próximas a la platina quedó perfectamente centrada, manteniéndose por espacio de 1 minuto, al término del cual, sobre la superficie de la cápsula se dispusieron los pesos en la secuencia de 100, 150, 300 y 500 gramos, en intervalos de 1 minuto.

El estudio de extensibilidad se realizó bajo condiciones constantes de temperatura ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y tras 48 horas de haber elaborado cada una de las fórmulas.

### V.3 Técnica de la medición

Para evaluar la extensibilidad de cada excipiente - así como de las correspondientes pomadas, se siguió la técnica propuesta (153) y perfeccionada (154) en nuestros estudios precedentes, para lo cual, transcurridos cada uno de los tiempos de acción (un minuto) de la caja Petri y juego de pesas, se impresionaron placas fotográficas de la extensibilidad de cada muestra, con una cámara fotográfica situada siempre a la misma distancia focal -objetivo/muestra- de 22 cm, y sobre la que incidió un foco luminoso de situación e intensidad constantes.

Una vez obtenidas las placas se procedió al revelado de las mismas por medio de los oportunos filtros y amplificadora que permitieron pasarlas a papel fotográfico, - -

siempre con igual aumento -7,8 x-.

Por último, una vez obtenidas las fotografías, se procedió a la determinación de la superficie de la extensibilidad, utilizando para ello un planímetro -"compensating polar planimeter"-, para lo cual se fijaron éste y copias-fotográficas a una superficie completamente plana, procediéndose seguidamente a la lectura directa de los perímetros producidos en cada uno de los casos estudiados.

#### V.4 Pruebas estadísticas

Los resultados obtenidos se sometieron a un estudio estadístico (análisis de la varianza, prueba de Scheffe y de comparación de dos medias en muestras pequeñas) cuyo fundamento ya ha sido descrito anteriormente (véase pág 103 y siguientes).

## **RESULTADOS**

**ESTUDIOS "IN VITRO"**

**LIBERACION MEDICAMENTOSA**

## I ESTUDIOS IN VITRO

### I.1 Ensayos de liberación medicamentosa

Los diámetros de los halos de difusión en mm (valores medios), producidos por los dos principios activos y - en función de los tres excipientes, tiempo y temperatura,- quedan recogidos en las tablas 2, 3 y fig. 3, 4 y 5.

		EMULSION O/A			EXC. ANHIDRO			GEL ACUOSO		
T(°C)		4	18	40	4	18	40	4	18	40
t (h)										
1	$\bar{X}$	2	2.6	5.6	6.6	8.4	11.4	4.4	6.6	7.6
	D S	0.7	0.9	0.9	0.6	0.9	1.3	0.5	0.6	1.1
4	$\bar{X}$	5.6	8.4	16.6	12.4	17.8	20.2	5.4	8.0	13.4
	D S	0.6	0.6	0.9	0.6	0.8	0.8	0.6	1.0	1.1
6	$\bar{X}$	6.8	11.2	17.4	16.2	19.8	21.4	6.2	9.4	20.2
	D S	0.8	0.8	0.6	0.8	0.8	0.6	0.8	1.1	1.3
12	$\bar{X}$	11.2	12.0	22.4	20.0	24.6	25.8	7.8	12.2	22.0
	D S	0.8	0.7	0.9	1.0	0.6	0.8	0.8	0.8	1.0
18	$\bar{X}$	12.2	13.0	23.4	22.2	25.4	27.8	11.0	17.0	26.4
	D S	0.8	0.7	0.6	0.8	0.6	1.3	1.4	0.7	0.9
24	$\bar{X}$	13.2	16.8	25.2	24.2	26.6	30.0	15.6	20.0	28.2
	D S	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	1.0	0.9	1.0	1.1

TABLA 2 .- Diámetros medios de difusión (mm) en función del tiempo y temperatura del Fentiazac ácido una vez incorporado en los excipientes - estudiados.

# FENTIAZAC ACIDO

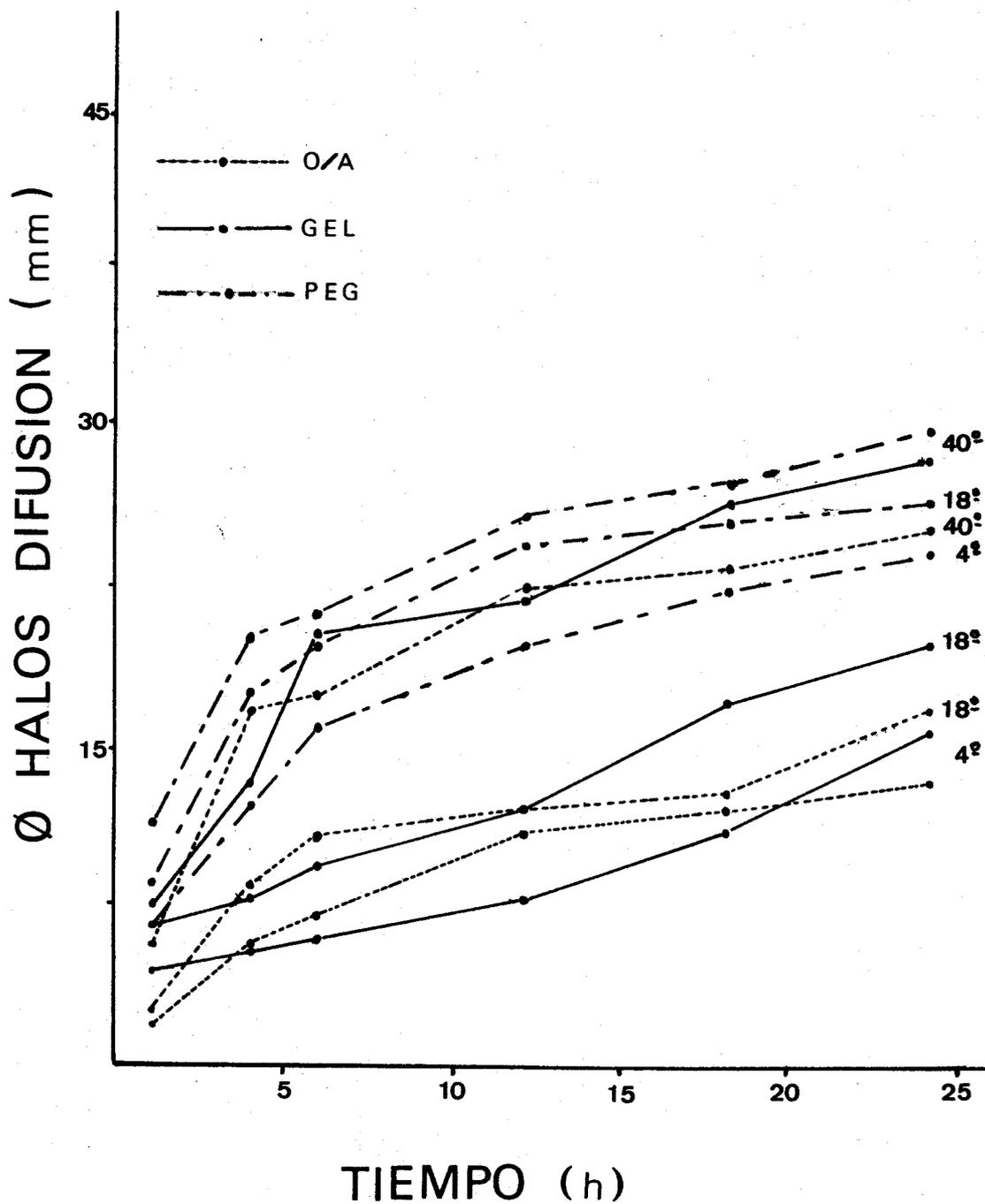


FIG. 3

Difusión de los preparados de Fentiazac ácido en función del tiempo y temperatura.

		EMULSION O/A			EXC. ANHIDRO			GEL ACUOSO		
T(°C)		4	18	40	4	18	40	4	18	40
t (h)										
1	$\bar{X}$	3.8	6.2	7.4	4.6	6.4	8.4	7.6	10.0	11.2
	D/S	0.8	0.8	0.6	0.9	0.6	0.9	1.1	1.2	1.3
4	$\bar{X}$	12.0	13.8	17.2	11.0	12.2	15.6	13.2	20.4	21.6
	D/S	1.0	1.3	0.8	1.4	0.8	1.9	0.8	1.5	1.7
6	$\bar{X}$	14.0	17.2	20.4	12.0	14.2	18.4	15.8	21.2	32.8
	D/S	1.0	0.8	1.6	1.2	1.3	0.6	2.2	2.6	1.9
12	$\bar{X}$	15.2	22.2	29.0	13.0	19.8	22.6	20.6	29.2	38.6
	D/S	0.8	1.6	1.0	1.0	1.5	1.1	1.1	1.9	1.3
18	$\bar{X}$	20.4	26.6	34.0	15.0	22.6	30.6	23.0	30.0	40.2
	D/S	0.9	1.3	1.0	1.2	1.1	1.3	1.0	2.0	1.5
24	$\bar{X}$	24.0	35.2	43.2	23.6	27.0	34.0	30.0	37.0	47.2
	D/S	1.0	0.8	0.8	1.3	1.6	1.2	1.9	1.4	0.8

TABLA 3 .- Diámetros medios de difusión (mm) en función del tiempo y temperatura del Monosalicilato de Etilenglicol una vez incorporado en los excipientes estudiados.

# MONOSALICILATO DE ETILENGLICOL

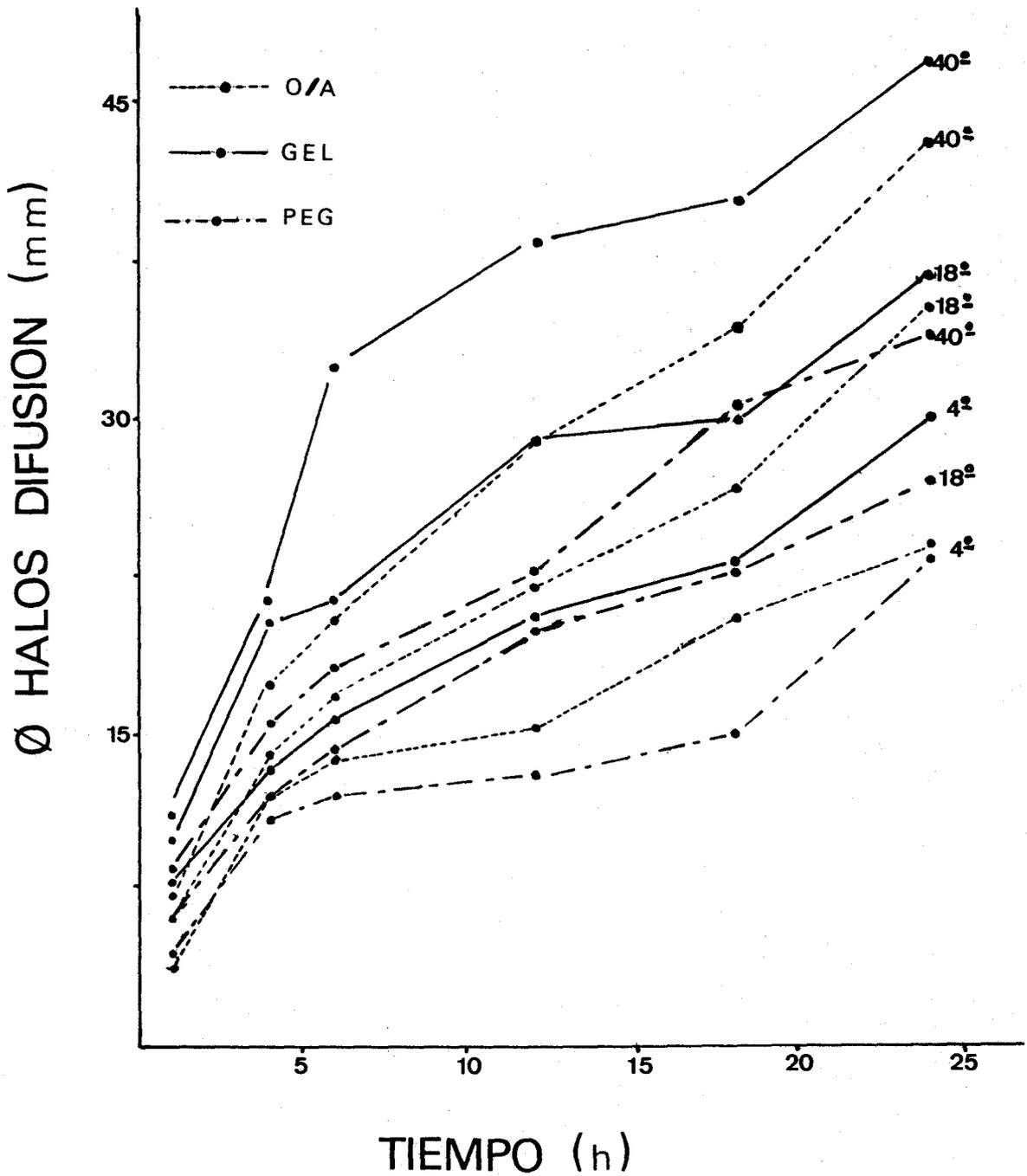
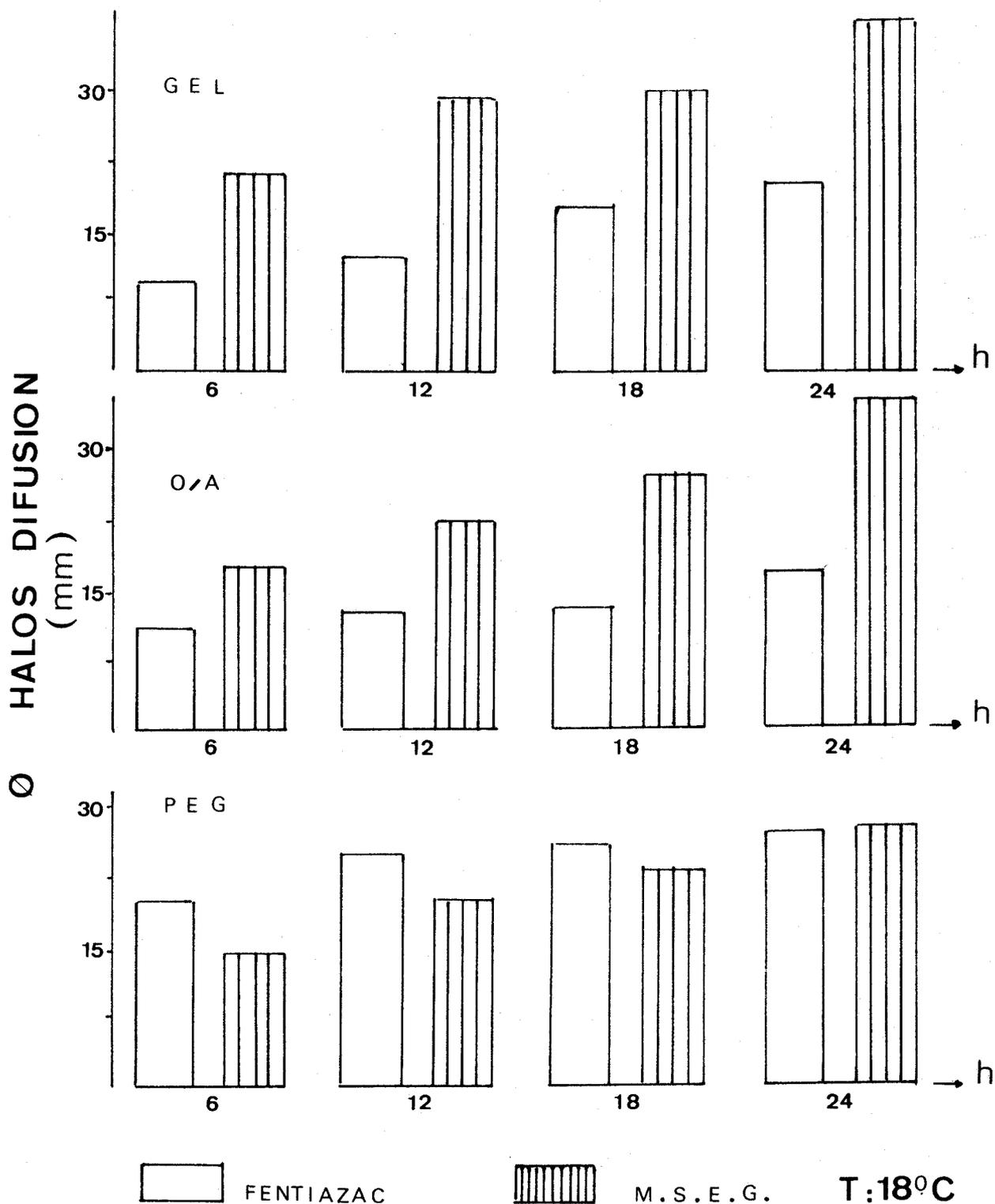


FIG. 4

Difusión de los preparados de M.S.E.G. en función del tiempo y temperatura.

FIG. 5



Comparación de la liberación de Fentiazac y M.S.E.G. en función del tiempo, a partir de excipientes homólogos.

**DIFUSION A TRAVES DE  
MEMBRANAS**

## I.2 Ensayos de difusión a través de membrana

### I.2.1 Fentiazac ácido

#### I.2.1.1 Resultados de la validación del método espectrofotométrico.

Los estudios analíticos y estadísticos, encaminados a comprobar la reproductibilidad del método elegido, se basaron en las extinciones producidas por una serie de diluciones del producto patrón cuyas concentraciones quedan recogidas en la siguiente tabla:

DILUCIONES	CONCENTRACIONES ( $\mu\text{g/ml}$ )
1 <sup>º</sup>	23.8
2 <sup>º</sup>	22.3
3 <sup>º</sup>	20.8
4 <sup>º</sup>	19.8
5 <sup>º</sup>	14.6
6 <sup>º</sup>	10.0
7 <sup>º</sup>	7.3
8 <sup>º</sup>	4.9
9 <sup>º</sup>	3.5
10 <sup>º</sup>	2.4
11 <sup>º</sup>	1.7
12 <sup>º</sup>	1.2
13 <sup>º</sup>	0.8
14 <sup>º</sup>	0.6

TABLA 4

## I.2.1.1.1 Parámetros estadísticos

Las extinciones obtenidas para cada una de las diluciones según el D.D. y E.D. (\*) se sometieron a un tratamiento estadístico, referido a muestras pequeñas con datos independientes (145,146), cuyos resultados quedan recogidos en las siguientes tablas:

Extinciones (media)	S.D. ( $\times 10^{-2}$ )	Varianza ( $\times 10^{-3}$ )	Intervalo de confianza
1.531	0.5	0.027	1.535 - 1.528
1.454	3.0	0.9	1.475 - 1.432
1.254	3.0	1.35	1.280 - 1.228
1.146	3.0	1.04	1.169 - 1.123
0.863	2.0	0.8	0.883 - 0.843
0.577	3.0	0.8	0.597 - 0.557
0.412	2.0	0.34	0.425 - 0.399
0.272	3.0	0.9	0.293 - 0.251
0.201	2.0	0.4	0.215 - 0.187
0.143	2.0	0.3	0.155 - 0.131
0.072	0.8	0.06	0.083 - 0.066
0.050	1.0	0.2	0.060 - 0.040
0.035	0.7	0.05	0.040 - 0.030
0.019	1.0	0.09	0.026 - 0.012

$$t(9, 0.05): 2.262$$

TABLA 5

Parámetros estadísticos sobre los valores de extinción obtenidos según D.D.

(\*) D.D.: extinciones de las diluciones correspondientes a 10 días consecutivos.

E.D.: extinciones de las diluciones correspondientes a 10 veces en un mismo día.

<u>Extinciones (media)</u>	<u>S.D. (<math>\times 10^{-2}</math>)</u>	<u>Varianza (<math>\times 10^{-3}</math>)</u>	<u>Intervalo de confianza</u>
1.538	1	0.1	1.545 - 1.531
1.432	6	3.5	1.475 - 1.389
1.257	6	3.8	1.299 - 1.214
1.129	7	4.8	1.179 - 1.079
0.843	4	1.9	0.875 - 0.811
0.559	4	1.6	0.587 - 0.530
0.417	3	0.8	0.438 - 0.396
0.259	4	2.0	0.291 - 0.227
0.182	4	2.0	0.214 - 0.150
0.138	2	0.4	0.152 - 0.124
0.066	2	0.3	0.078 - 0.054
0.045	1	0.1	0.052 - 0.038
0.032	1	0.1	0.039 - 0.025
0.022	1	0.2	0.032 - 0.012

$t(9, 0.05): 2.262$

**TABLA 6**

Parámetros estadísticos sobre los valores de extinción-  
obtenidos según E.D.

Variación del error experi mental : $s^2(\times 10^{-4})$	$t_{18}$
0,6	1,948
22,4	1,010
25,6	0,141
29,1	0,699
13,4	1,213
12,0	1,162
6,1	1,600
14,4	0,764
12,2	1,357
3,9	0,555
1,9	0,962
1,6	0,881
0,8	0,750
1,6	0,538

$t(18, 0.05): 2.101$

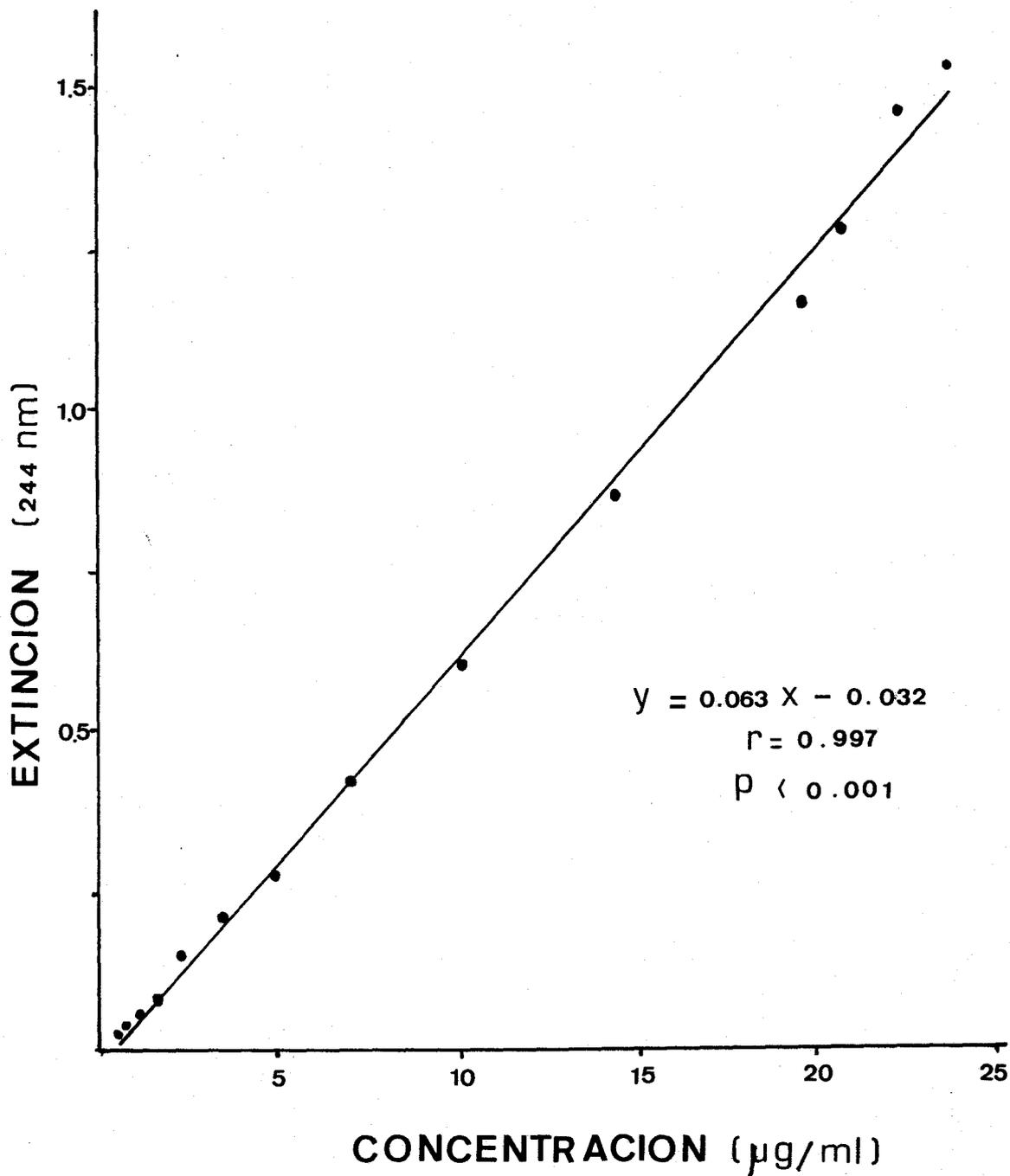
$t_{18} < t(18, 0.05)$

$P > 0.05$

TABLA 7

Comparación de las medias, extinciones en el D.D. y E.D.

FIG. 6



Representación de la recta de calibración típica para la valoración espectrofotométrica del Fentiazac ácido.

También se ha determinado la ecuación teórica de la recta de regresión a partir de los datos experimentales, - para cuyo cálculo estadístico se siguió el método de los - mínimos cuadrados (147).

TABLA 8

$$a = 0.063$$

$$b = - 0.032$$

$$r = 0.997$$

$$Y = 0.063X - 0.032$$

X : concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )

Y : extinción experimental  
(244 nm)

$$P < 0.001$$

Recta de calibración típica para la valoración del Fentiazac ácido en el compartimiento receptor.

### I.2.1.2 Resultados cuantitativos de difusión

Una vez demostrada la validez del método, se detectaron espectrofotométricamente las fracciones de Fentiazac ácido que, en función del tiempo, difundieron a través de la membrana biológica (piel porcina liofilizada).

Para cada pomada se realizaron seis experiencias de difusión y por medio de las extinciones obtenidas se hallaron las correspondientes concentraciones del fármaco expresadas en  $\mu\text{g/ml}$ .

TABLA 9

Tiempos (min.)	Extinciones (244 nm)		Concentraciones ( $\mu\text{g/ml}$ )		Dosis liberada (%)
	$\bar{x}$	$\pm$ D.S.	$\bar{x}$	$\pm$ D.S.	
15	0.46	0.04	7.88	0.71	14.19
30	0.55	0.03	9.21	0.47	16.58
45	0.67	0.03	11.23	0.47	20.22
60	0.79	0.06	13.01	0.91	23.43
90	0.92	0.03	15.19	0.70	27.35
120	0.99	0.03	16.19	0.70	29.15
150	1.03	0.03	16.85	0.65	30.34
180	1.17	0.05	19.09	0.68	34.37

Liberación de Fentiazac a partir del preparado con excipiente anhidro.

TABLA 10

Tiempos (min.)	Extinciones (244 nm)			Concentraciones ( $\mu\text{g/ml}$ )			Dosis li- berada (%)
	$\bar{x}$	$\pm$	D.S.	$\bar{x}$	$\pm$	D.S.	
15	N.D.	-	-	N.D.	-	-	-
30	0.11	0.02	-	2.32	0.24	-	4.28
45	0.27	0.02	-	4.79	0.52	-	8.63
60	0.46	0.02	-	7.76	0.34	-	13.97
90	0.72	0.04	-	12.00	0.69	-	21.61
120	0.89	0.03	-	14.76	0.58	-	26.58
150	1.19	0.06	-	19.50	0.71	-	35.11
180	1.31	0.09	-	21.37	0.78	-	38.48

Liberación de Fentiazac a partir del preparado con excipiente gel acuosa.

TABLA II

Tiempos (min.)	Extinciones (244 nm)			Concentraciones ( $\mu\text{g/ml}$ )			Dosis li- berada (%)
	$\bar{x}$	$\pm$	D.S.	x	$\pm$	D.S.	
15	0.01		0.003	0.75		0.04	1.35
30	0.02		0.002	0.81		0.04	1.46
45	0.03		0.003	0.97		0.05	1.75
60	0.06		0.003	1.39		0.05	2.50
90	0.07		0.002	1.55		0.06	2.79
120	0.07		0.004	1.68		0.06	3.03
150	0.12		0.008	2.43		0.12	4.38
180	0.12		0.008	2.47		0.12	4.45

Liberación de Fentiazac a partir del preparado con excipiente emulsionado.

La representación gráfica de los valores obtenidos se hizo en función de  $\sqrt{t}$  (Figura 7), hallándose para cada caso la ecuación teórica de la recta de regresión por el método de los mínimos cuadrados, que representa la función:

$$C_m = F \sqrt{t}$$

Siendo  $C_m$ : media de las concentraciones expresadas en  $\mu\text{g/ml}$  de Fentiazac ácido en el medio receptor en cada instante " $t$ ".

TABLA 12

$a = 1.16$

$b = 3.43$

$r = 0.991$

$Y = 1.16X + 3.43$

Y: concentración media

X: raíz cuadrada de "t"

$P < 0.001$

Cálculo de la recta de regresión para la cinética de liberación del Fentiazac ácido en función del excipiente anhidro.

TABLA 13

$a = 2.34$

$b = - 10.14$

$r = 0.996$

$Y = 2.34X - 10.14$

Y: concentración media

X: raíz cuadrada de "t"

$P < 0.001$

Cálculo de la recta de regresión para la cinética de liberación del Fentiazac ácido en función del gel-acuoso

TABLA 14

$$a = 0.19$$

$$b = - 0.15$$

$$r = 0.968$$

$$Y = 0.19X - 0.15$$

Y: concentración media

X: raíz cuadrada de "t"

$$P < 0.001$$

Cálculo de la recta de regresión para la cinética de liberación del Fentiazac ácido en función del excipiente emulsionado.

# FENTIAZAC ACIDO

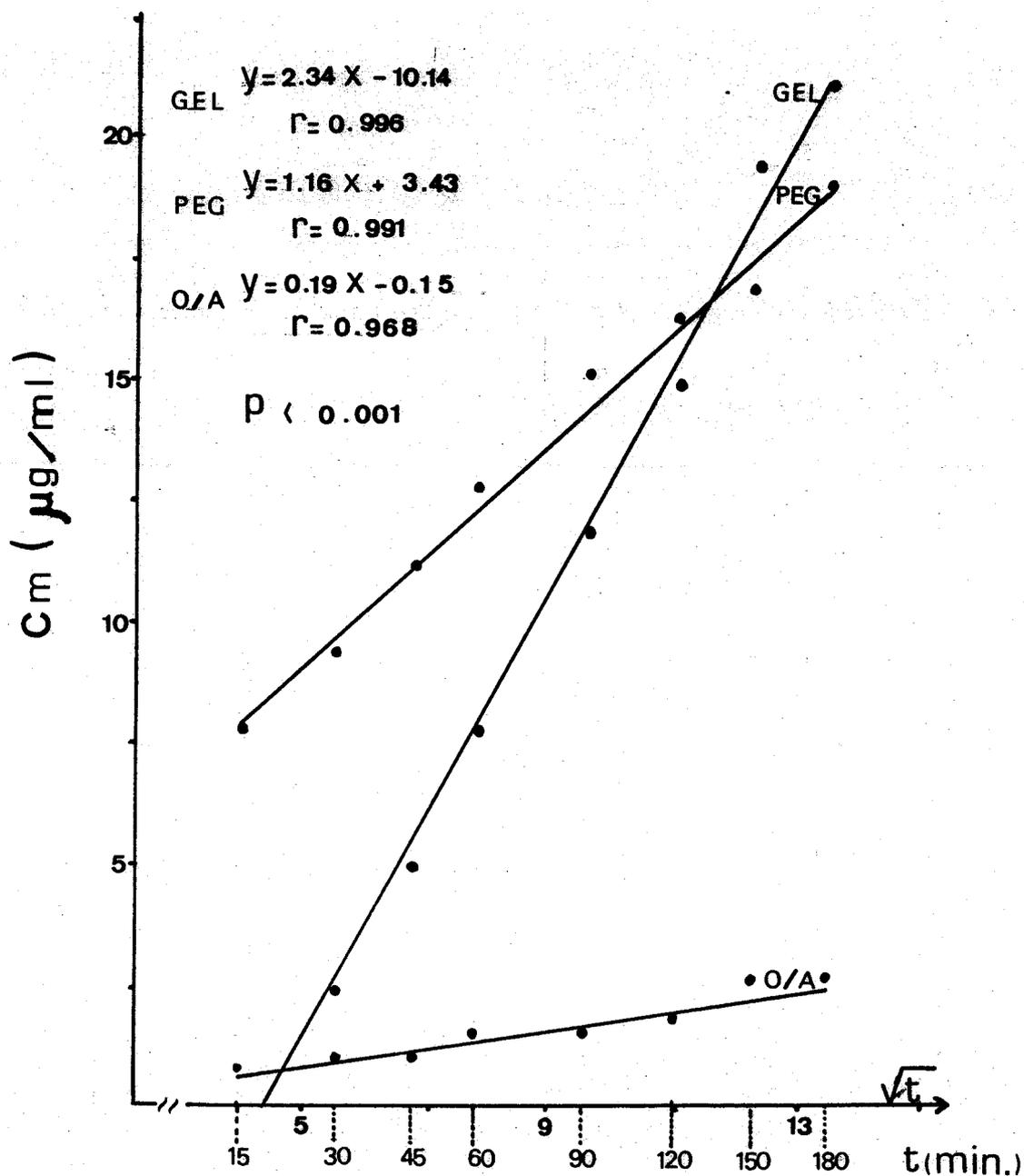


FIG. 7

Cinética de liberación del Fentiazac ácido en función de la formulación.

### I.2.1.3 Pruebas estadísticas

Sobre los resultados que se alcanzaron en los períodos inicial (0 a 60 min.), medio (60 a 120 min.) y final (120 a 180 min.) del proceso, se practicó el análisis de la varianza (Tablas 15, 16 y 17) y prueba de Scheffé (Tabla 18).

Para cada tiempo se realizaron 18 determinaciones de difusión, clasificándose en tres grupos de seis determinaciones cada uno:

FA<sub>2</sub> : Fentiazac/ Excipiente anhidro

FA<sub>1</sub> : Fentiazac/ Gel acuoso

FA<sub>3</sub> : Fentiazac/ Excipiente emulsionado

**TABLA 15 : PERIODO INICIAL**

FA <sub>2</sub>		FA <sub>1</sub>		FA <sub>3</sub>	
$\bar{x}_2$	$s_2^2$	$\bar{x}_1$	$s_1^2$	$\bar{x}_3$	$s_3^2$
12.79	163.58	8.07	65.12	1.31	1.72
11.87	140.89	7.92	62.73	1.42	2.02
14.38	206.78	7.29	53.14	1.45	2.10
13.53	183.06	7.38	54.46	1.38	1.90
12.23	149.57	7.89	62.25	1.35	1.82
13.27	176.09	8.02	64.32	1.43	2.04

$$F(2,15,0.01) = 6.36$$

$$F = 641.07$$

$$P < 0.01$$

Cálculo de significación en las diferencias entre los grupos de pomadas de Fentiazac ácido, a los 60'

TABLA 16 : PERIODO MEDIO

FA <sub>2</sub>		FA <sub>1</sub>		FA <sub>3</sub>	
x <sub>2</sub>	x <sub>2</sub> <sup>2</sup>	x <sub>1</sub>	x <sub>1</sub> <sup>2</sup>	x <sub>3</sub>	x <sub>3</sub> <sup>2</sup>
16.25	264.06	15.29	233.78	1.58	2.49
16.14	260.49	14.65	215.62	1.71	2.92
16.17	261.47	14.35	205.92	1.75	3.06
16.84	283.58	15.35	235.62	1.71	2.92
15.22	231.65	15.06	226.80	1.67	2.79
16.51	272.58	13.87	192.38	1.67	2.79

$$F(2,15,0.01) = 6.36$$

$$F = 1809.76 \quad P < 0.01$$

Cálculo de significación en las diferencias entre los grupos de pomadas de Fentiazac ácido, a los 120°

TABLA 17 : PERIODO FINAL

FA <sub>2</sub>		FA <sub>1</sub>		FA <sub>3</sub>	
x <sub>2</sub>	x <sub>2</sub> <sup>2</sup>	x <sub>1</sub>	x <sub>1</sub> <sup>2</sup>	x <sub>3</sub>	x <sub>3</sub> <sup>2</sup>
20.24	409.66	20.87	435.56	2.57	6.60
18.71	350.06	21.33	454.97	2.52	6.35
18.34	336.35	21.90	479.61	2.32	5.38
19.43	377.52	22.22	493.73	2.43	5.90
19.17	367.49	21.79	474.80	2.35	5.52
18.68	348.94	20.09	403.61	2.62	6.86

$$F(2,15,0.01) = 6.36$$

$$F = 1754.84 \quad P < 0.01$$

Cálculo de significación en las diferencias entre los grupos de pomadas de Fentiazac ácido, a los 180°

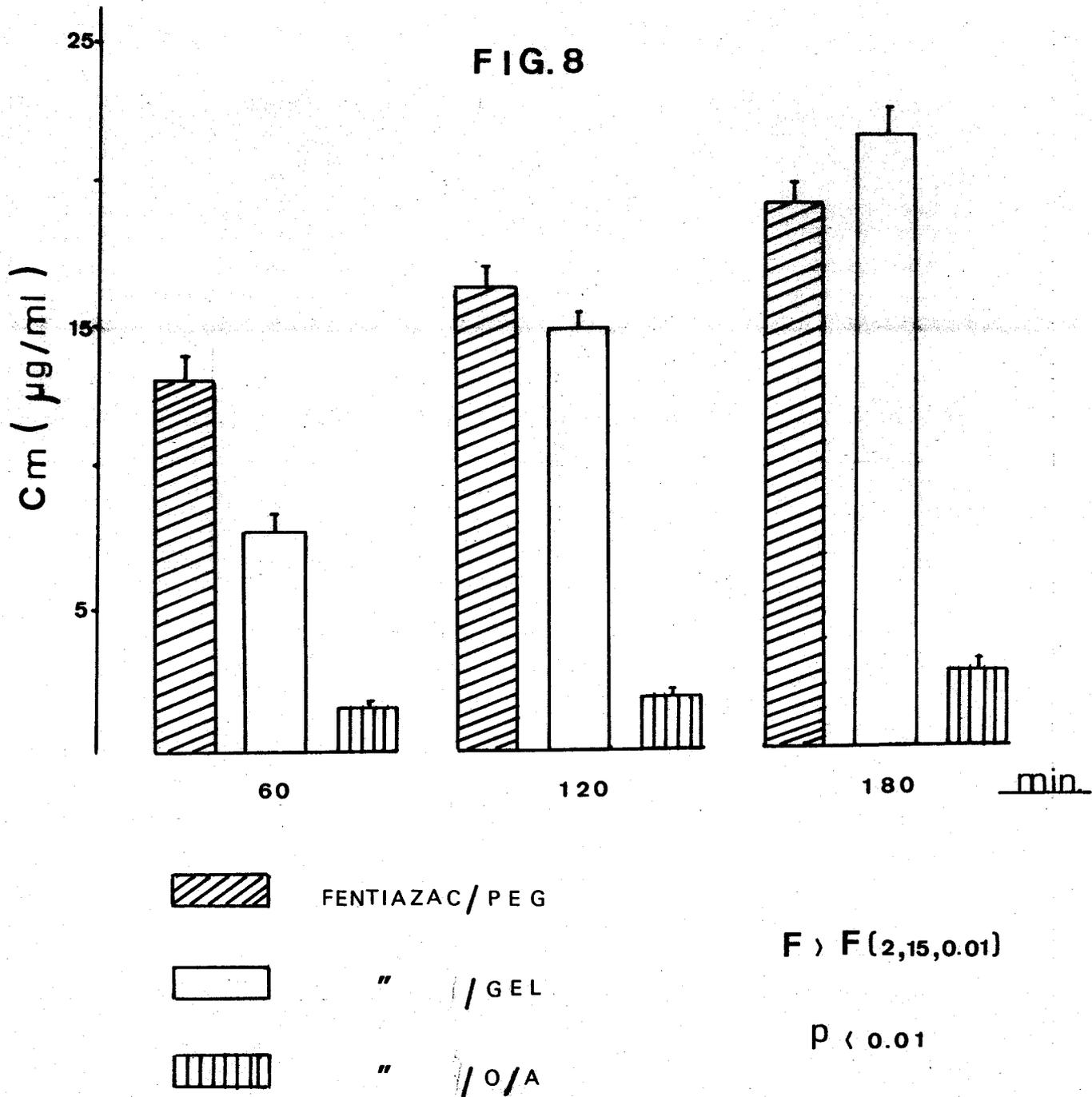
TABLA 18

Relación entre grupos	P. inicial	P. medio	P. final
$FA_1 - FA_2$	130.01	14.40	21.44
$FA_1 - FA_3$	191.40	1204.83	1473.44
$FA_2 - FA_3$	636.91	1482.67	1141.41

$F(2,15,0.01) = 6.36$

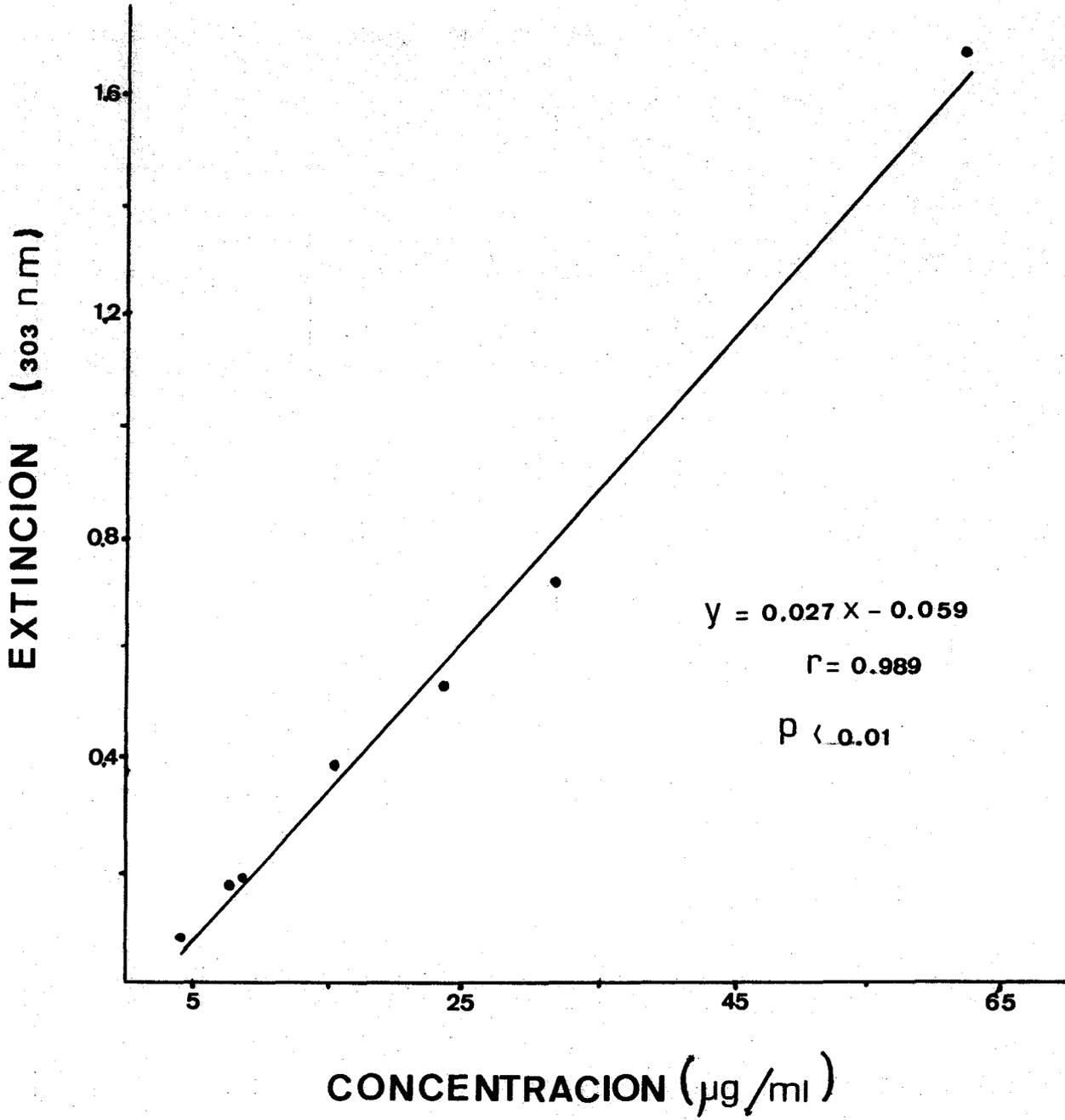
$P < 0.01$

Prueba de Scheffé



Representación del distinto comportamiento entre los grupos de pomadas del Fentiazac ácido según el excipiente y periodo de la experiencia.

FIG. 9



Representación de la recta de calibración típica para la valoración espectrofotométrica del M.S.E.G.

## I.2.2 Monosalicilato de Etilenglicol

### I.2.2.1 Establecimiento de la curva patrón

Las experiencias de difusión para este principio activo se han basado en la propiedad que tienen sus soluciones acuosas diluidas de presentar un máximo de extinción en la longitud de onda de 303 nm (141,142,143).

Como paso previo, se tuvo que establecer la curva de referencia para dicho fármaco. A tal efecto, se prepararon una serie de diluciones a partir de una solución patrón (0.5 % P/V) en suero salino fisiológico.

TABLA 19

$$\begin{aligned}
 a &= 0.027 \\
 b &= - 0.059 \\
 r &= 0.989
 \end{aligned}
 \qquad
 \begin{aligned}
 Y &= 0.027X - 0.059 \\
 X &: \text{concentración} \\
 Y &: \text{extinciones experim.} \\
 &\quad (303 \text{ nm})
 \end{aligned}$$

$$P < 0.001$$

Cálculo de la recta de calibración típica para la determinación de Monosalicilato de Etilenglicol en el compartimiento receptor.

### I.2.2.2 Resultados analíticos de difusión

Con el Monosalicilato de Etilenglicol se ha seguido, en todos los casos, el mismo protocolo experimental que para el Fentiazac ácido.

**TABLA 20**

Tiempos (min)	Extinciones (303 nm)		Concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )		Dosis liberada (%)
	$\bar{X}$	$\pm$ D.S.	$\bar{X}$	$\pm$ D.S.	
15	N.D.	-	N.D.	-	-
30	0.02	0.003	2.88	0.13	5.18
45	0.12	0.008	6.44	0.37	11.59
60	0.17	0.014	8.32	0.47	14.98
90	0.21	0.012	10.10	0.57	18.18
120	0.27	0.019	12.20	0.69	21.96
150	0.33	0.022	14.25	0.81	25.66
180	0.37	0.018	15.80	0.89	28.45

Liberación del Monosalicilato de Etilenglicol a partir del preparado con excipiente anhidro

TABLA 21

Tiempos (min.)	Extinciones (303 nm)		Concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Dosis li- berada (%)
	$\bar{x}$	$\pm$ D.S.	$\bar{x}$	$\pm$ D.S.	
15	0.55	0.008	22.26	0.59	40.62
30	0.76	0.028	30.53	1.43	54.97
45	0.91	0.060	35.90	1.71	64.64
60	1.01	0.048	39.71	1.37	71.50
90	1.11	0.054	43.38	1.53	78.11
120	1.30	0.073	50.33	2.07	90.63
150	1.35	0.063	52.37	1.79	94.30
180	1.42	0.091	54.67	2.58	98.44

Liberación del Monosalicilato de Etilenglicol  
a partir del preparado con excipiente gel - -  
acuoso

TABLA 22

Tiempos (min)	Extinciones (303 nm)		Concentraciones ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Dosis li- berada (%)
	$\bar{x}$	$\pm$ D.S.	$\bar{x}$	$\pm$ D.S.	
15	0.10	0.011	6.04	0.54	10.87
30	0.52	0.045	21.56	0.99	38.82
45	0.74	0.023	29.67	1.34	53.42
60	0.80	0.041	31.79	1.55	57.24
90	1.01	0.138	39.78	3.91	71.63
120	1.10	0.070	42.89	1.98	77.23
150	1.15	0.054	44.67	1.52	80.44
180	1.21	0.077	46.81	2.18	84.29

Liberación del Monosalicilato de Etilenglicol  
a partir del preparado con excipiente emulsio-  
nado

Para este principio activo tambien se ha querido —  
comprobar si la cinética de su liberación cumplía la fun-  
ción  $Q_m = F \sqrt{t}$ , calculándose para cada caso las ecuaciones  
teóricas y grado de relación entre las variables (147).

TABLA 23

$$a = 0.76$$

$$b = -1.61$$

$$r = 0.963$$

$$Y = 0.76X - 1.61$$

Y: concentración media

X: raíz cuadrada de "t"

$$P < 0.001$$

Cálculo de la ecuación teórica para la cinética de  
liberación del Monosalicilato de Etilenglicol en -  
función del excipiente anhidro

TABLA 24

$$a = 3.31 \qquad Y = 3.31X + 12.25$$

$$b = 12.25 \qquad Y: \text{concentración media}$$

$$r = 0.989 \qquad X: \text{raíz cuadrada de "t"}$$

$$P < 0.001$$

Cálculo de la ecuación teórica para la cinética de liberación del Monosalicilato de Etilenglicol en función del excipiente gel acuoso

TABLA 25

$$a = 3.91 \qquad Y = 3.91X - 1.27$$

$$b = - 1.27 \qquad Y: \text{concentración media}$$

$$r = 0.949 \qquad X: \text{raíz cuadrada de "t"}$$

$$P < 0.001$$

Cálculo de la ecuación teórica para la cinética de liberación del Monosalicilato de Etilenglicol en función del excipiente emulsionado

# M.S.E.G.

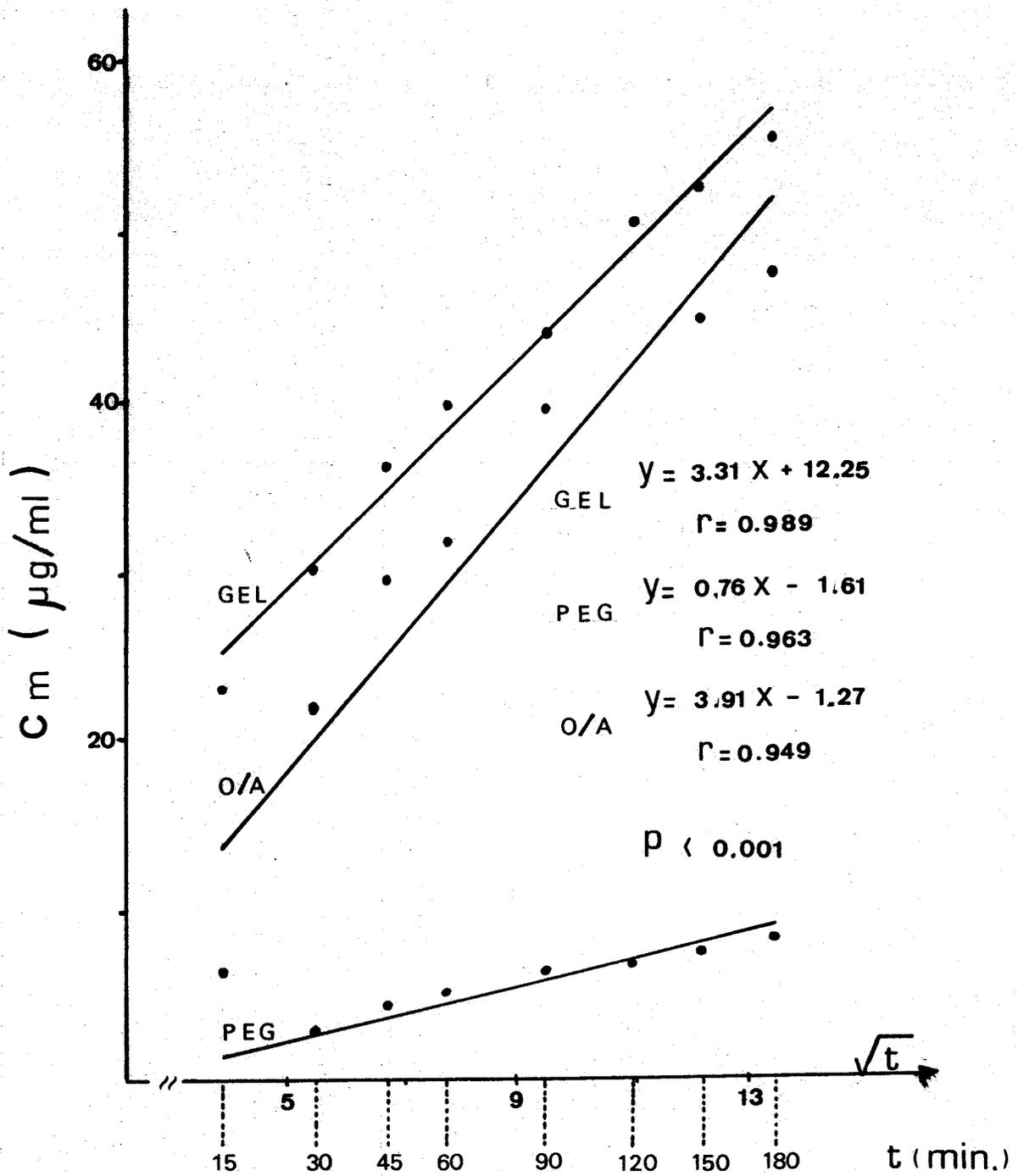


FIG. 10

Cinética de liberación del M.S.E.G. en función de la formulación.

## I.2.2.3 Pruebas estadísticas

Se aplicaron sobre los resultados obtenidos en los períodos inicial, medio y final del proceso, los cuales se clasificaron en tres grupos que denominamos:

- $M_2$  : Monosalicilato de Etilenglicol/ Excipiente anhidro  
 $M_1$  : Monosalicilato de Etilenglicol/ Gel acuoso  
 $M_3$  : Monosalicilato de Etilenglicol/ Excipiente emulsionado

TABLA 26 : PERIODO INICIAL

$M_2$		$M_1$		$M_3$	
$x_2$	$x_2^2$	$x_1$	$x_1^2$	$x_3$	$x_3^2$
8.65	74.82	40.67	1654.05	31.89	1016.97
8.49	72.08	38.89	1512.43	30.85	951.72
7.82	61.15	39.56	1564.99	32.63	1064.72
8.82	77.79	41.23	1699.91	29.25	855.56
8.49	72.08	39.71	1576.88	32.43	1051.70
7.65	58.52	37.34	1394.27	33.69	1135.01

$$F (2,15,0,01) = 6.36$$

$$F = 525.95$$

$$P < 0.01$$

Cálculo de significación en las diferencias entre los grupos de pomadas de Monosalicilato de Etilenglicol (M.S.E.G.), a los 60'

TABLA 27 : PERIODO MEDIO

$M_2$		$M_1$		$M_3$	
$x_2$	$x_2^2$	$x_1$	$x_1^2$	$x_3$	$x_3^2$
13.18	173.71	50.89	2589.79	46.32	2145.54
11.96	143.04	51.89	2692.57	42.03	1766.52
11.47	131.56	48.22	2325.17	40.32	1625.70
12.93	167.18	52.34	2739.47	42.93	1842.98
11.71	137.12	51.34	2635.79	42.37	1795.22
11.96	143.04	47.31	2238.24	43.73	1912.31

$$F(2,15,0.01) = 6.36$$

$$F = 483.46$$

$$P < 0.01$$

Cálculo de significación en las diferencias entre los grupos de pomadas de M.S.E.G., a los 120'

TABLA 28 : PERIODO FINAL

$M_2$		$M_1$		$M_3$	
$x_2$	$x_2^2$	$x_1$	$x_1^2$	$x_3$	$x_3^2$
14.54	211.41	57.95	3358.20	47.00	2209.00
16.12	259.85	55.76	3109.18	47.44	2250.55
16.75	280.56	50.29	2529.08	46.00	2116.00
15.17	230.13	54.70	2992.09	49.62	2462.14
15.48	239.63	53.63	2876.18	47.75	2280.06
16.75	280.56	55.67	3099.15	43.07	1855.02

$$F(2,15,0.01) = 6.36$$

$$F = 622.58$$

$$P < 0.01$$

Cálculo de significación en las diferencias entre los grupos de pomadas de M.S.E.G., a los 180'

TABLA 29

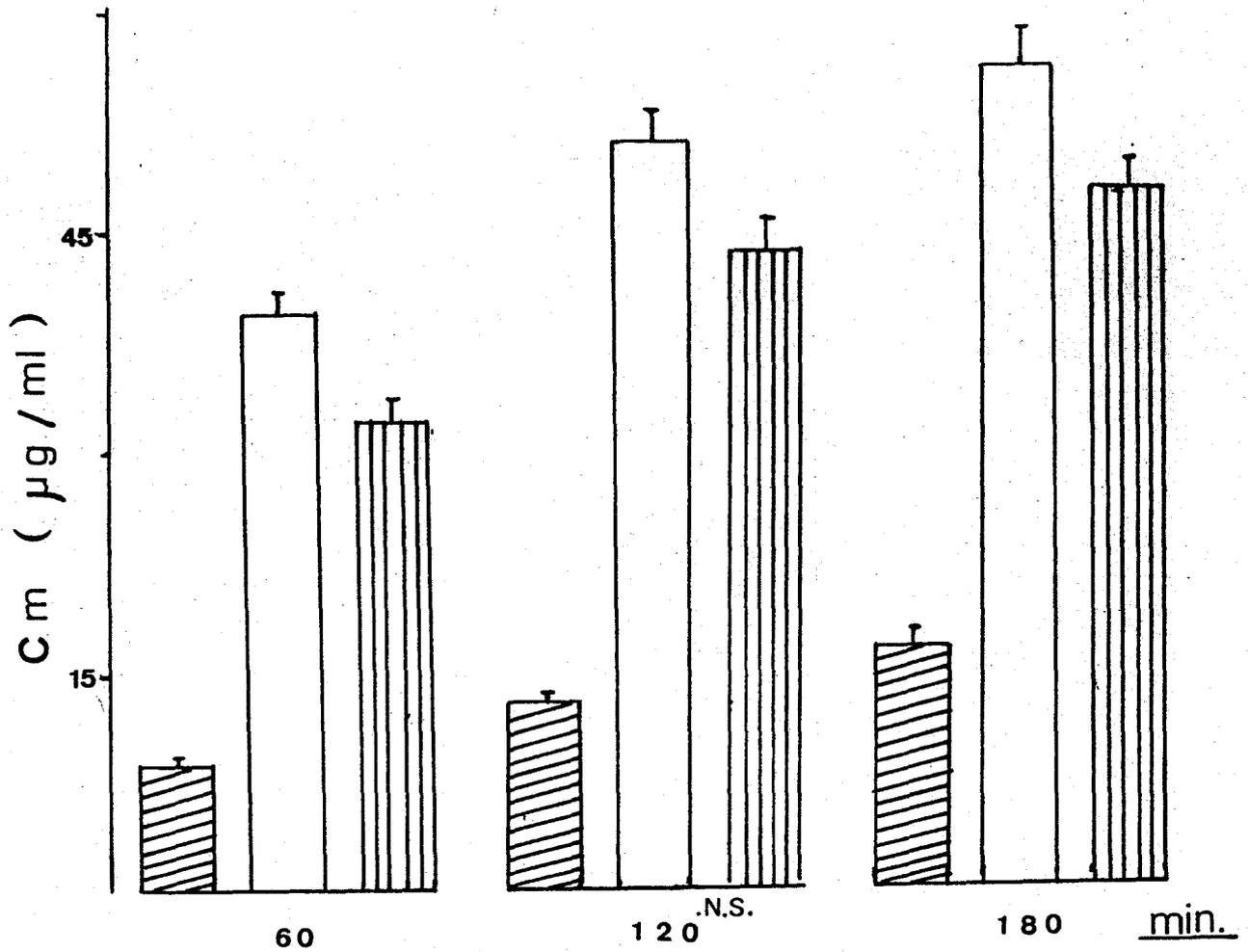
Relación entre grupos	P. inicial	P. medio	P. final
$M_1 - M_2$	486.82	134.54	524.61
$M_1 - M_3$	30.84	5.12	23.05
$M_2 - M_3$	270.82	87.16	358.81

$F(2,15,0.01) = 6.36$

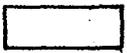
$P < 0.01$

Prueba de Scheffé

FIG. 11



M.S.E.G. / PEG



" / GEL



" / O/A

$F > F(2, 15, 0.01)$

$P < 0.01$

Representación del distinto comportamiento entre los grupos de pomadas de M.S.E.G. según el excipiente y periodo de la experiencia.

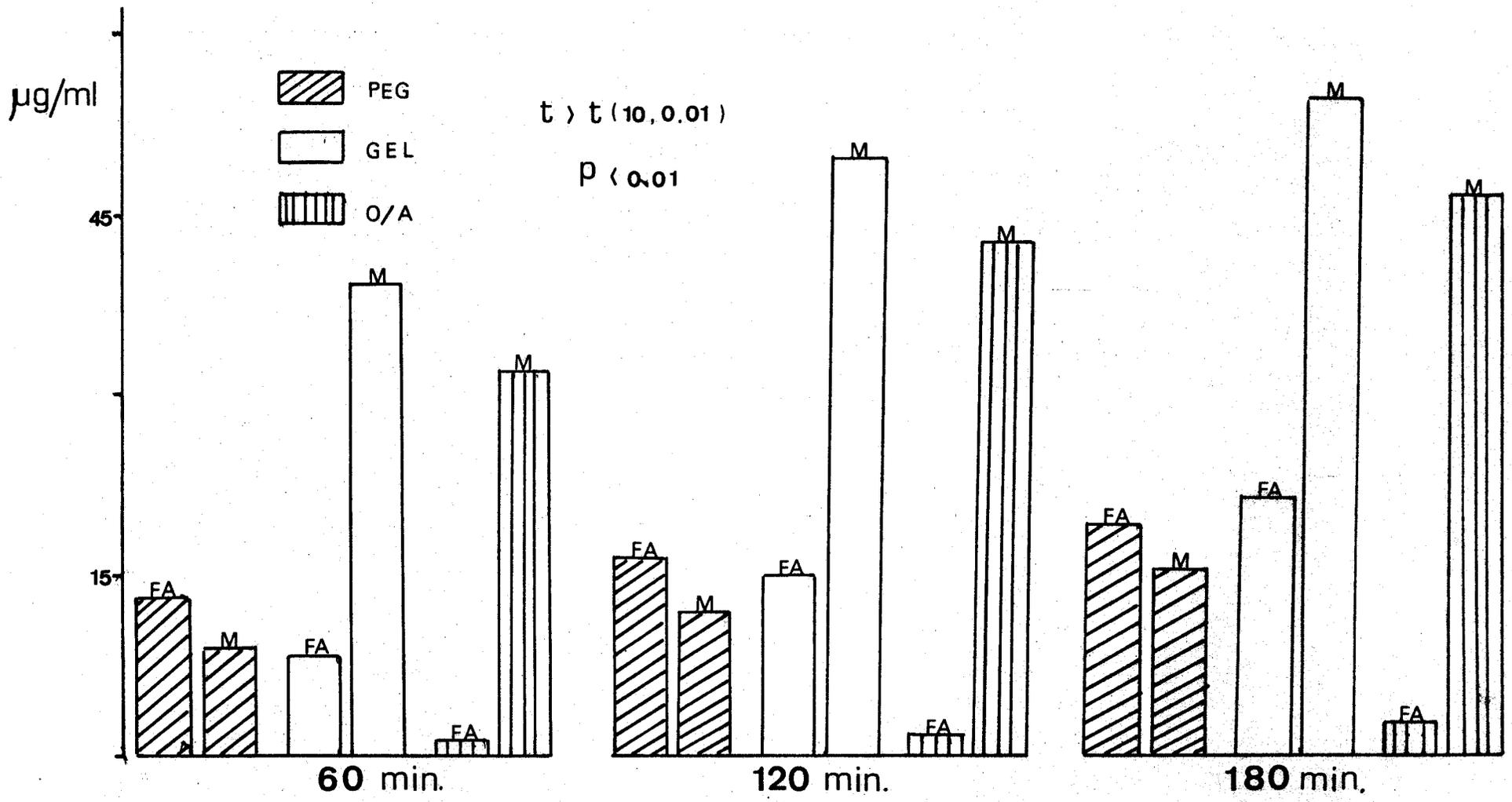
TABLA 30

Periodo (min.)	Preparados dermatológicos	Variación del error experimental: $S^2$	$t_{10}$
0-60	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.525	11.210
	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	0.995	55.480
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	1.208	47.910
60-120	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.385	11.140
	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	2.310	40.535
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	1.962	50.958
120-180	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.631	7.174
	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	3.628	30.278
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	2.393	38.252

$$t(10, 0.01) = 3.169$$

$$P < 0.01$$

Comparación de valores medios de difusión, Fentiazac y M.S.E.G., en función de excipientes homólogos.



**FIG. 12**

Estudio comparativo de los valores medios de difusión de Fentiazac ácido y M.S.E.G. en función de excipientes homólogos.

## **E. BIOFARMACEUTICOS**

**II.1 Fentiazac ácido.****II.1.1 Validación del método espectrofotométrico****TABLA 31**

<b>DILUCIONES</b>	<b>CONCENTRACIONES µg/ml</b>
1ª	15.63
2ª	7.81
3ª	3.91
4ª	1.95
5ª	0.98
6ª	0.49

Soluciones patrón sobre las que se realizaron los estudios analíticos y estadísticos.

TABLA 32

Extinciones (media)	S.D. ( $\times 10^{-2}$ )	Varianza ( $\times 10^{-3}$ )	Intervalo de confianza
1.219	4.6	2.1	1.276 - 1.159
0.623	1.4	0.2	0.673 - 0.573
0.339	4.7	2.2	0.399 - 0.279
0.192	7.0	4.9	0.282 - 0.102
0.090	4.0	1.6	0.140 - 0.040
0.046	2.8	0.8	0.081 - 0.016

$$t(4, 0.05) = 2.776$$

Parámetros estadísticos sobre los valores de extinción en las diluciones correspondientes a 5 días consecutivos (D.D.).

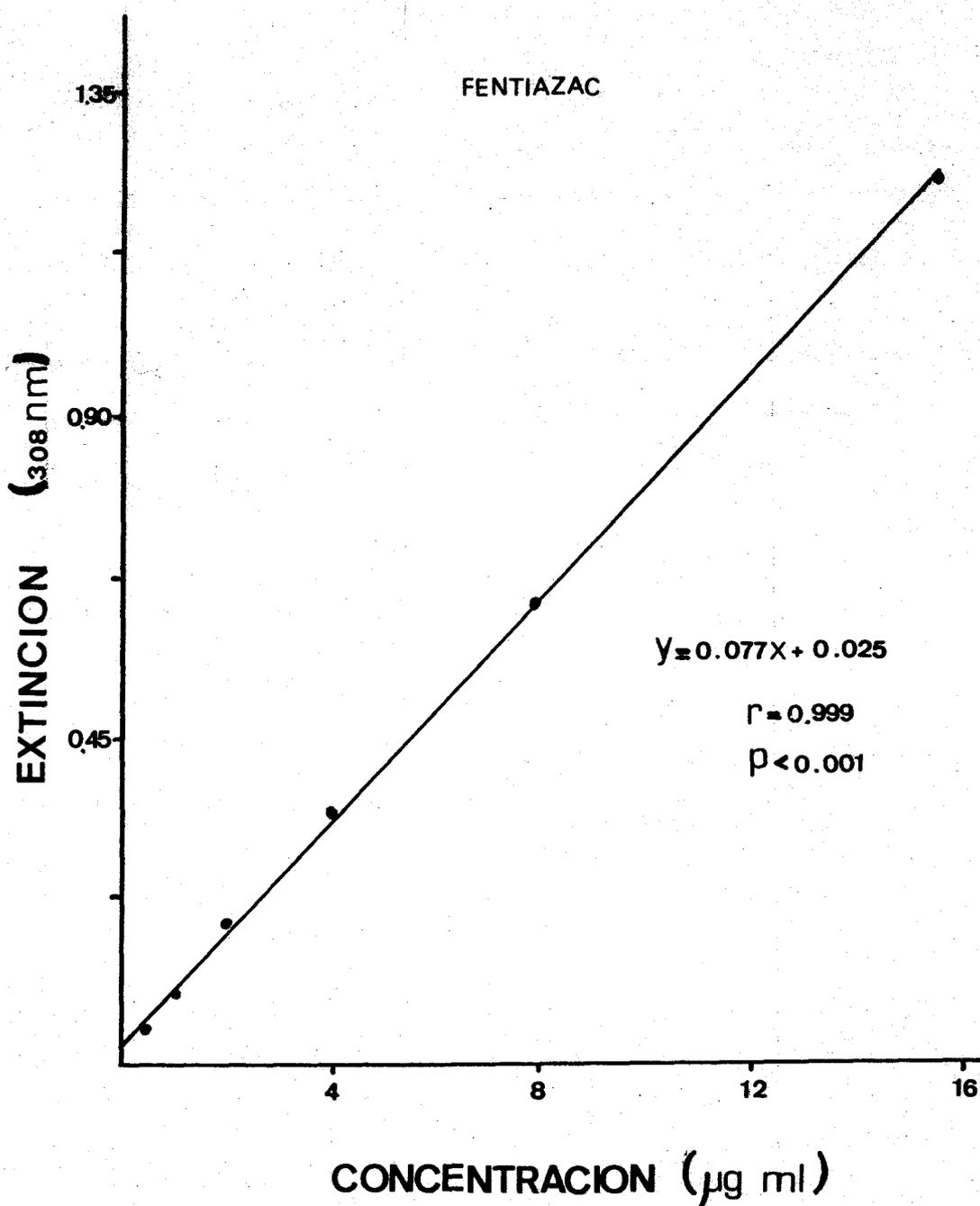
TABLA 33

Extinciones (media)	S.D. ( $\times 10^{-2}$ )	Varianza ( $\times 10^{-3}$ )	Intervalo de confianza
1.208	2.3	0.53	1.238 - 1.178
0.622	0.7	0.05	0.631 - 0.613
0.323	1.8	0.32	0.343 - 0.303
0.191	1.3	0.17	0.207 - 0.175
0.092	3.1	0.96	0.132 - 0.052
0.042	0.5	0.02	0.048 - 0.036

$$t(4, 0.05) = 2.776$$

Parámetros estadísticos sobre los valores de extinción en las diluciones correspondientes a 5 veces en un mismo día (E.D.).

FIG.13



Representación de la recta de calibración típica para la valoración espectrofotométrica del Fentiazac ácido inmodificado excretado en la orina.

TABLA 34

Variación del error experimental: $s^2 (\times 10^{-3})$	$t_s$
1.323	0.524
0.123	0.156
1.267	0.778
3.295	0.030
1.281	0.097
0.405	0.344

Comparación de las medias, extinciones de D.D.  
y E.D.

TABLA 35

$$\begin{aligned}
 a &= 0.077 \\
 b &= 0.025 \\
 r &= 0.999
 \end{aligned}
 \qquad
 \begin{aligned}
 Y &= 0.077X + 0.025 \\
 P &< 0.001
 \end{aligned}$$

X : concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )

Y : extinción experimental (308 nm)

Recta de calibración típica para la valoración  
del Fentiazac ácido excretado en la orina

## II.1.2 Resultados cuantitativos de excreción urinaria

Demostrada la validez del método espectrofotométrico y establecida la curva patrón, se procedió a la determinación del Fentiazac ácido inmodificado excretado por orina.

Tiempos (H)	Extinciones (308 nm)	Conc. Sol. bencénica ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	$\mu\text{g}$ total orina	Valores acumulados (mg)	U:% dosis excretada
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		
3	0.091	0.857	208.0	0.208	0.49
6	0.277	3.273	647.0	0.855	2.05
9	0.193	2.182	407.5	1.263	3.03
12	0.141	1.506	377.0	1.639	3.94
15	0.093	0.883	317.5	1.957	4.69
24	0.049	0.312	317.0	2.274	5.46
33	0.034	0.117	58.5	2.332	5.60

**TABLA 36**

Datos extraídos a partir del Fentiazac formulado en gel acuoso.

TABLA 37

Tiempos Extinciones (H)	(308 nm)	Conc. Sol. bencénica ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$\mu\text{g}$ total orina	Valores acumula dos(mg)	U:% dosis excretada
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		
3	0.065	0.519	213.0	0.213	0.51
6	0.254	2.970	980.0	1.193	2.86
9	0.141	1.510	418.0	1.611	3.87
12	0.095	0.910	349.5	1.961	4.71
15	0.062	0.480	269.0	2.229	5.35
24	0.030	0.065	233.5	2.463	5.91
33	0.030	0.065	36.0	2.499	6.00

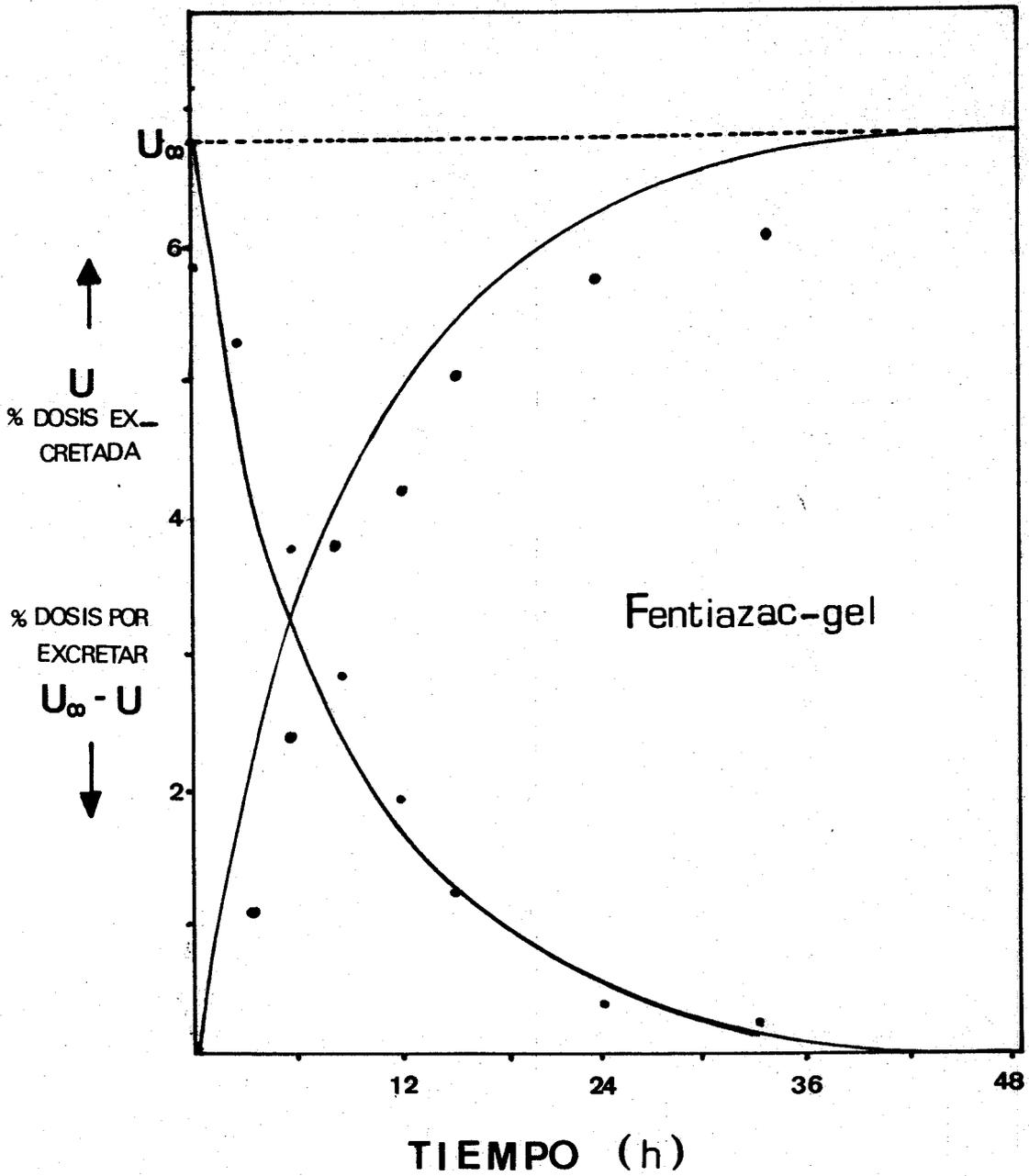
Datos extraídos a partir del Fentiazac formulado en excipiente anhidro.

TABLA 38

Tiempos Extinciones (H)	(308 nm)	Conc. Sol. bencénica ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$\mu\text{g}$ total orina	Valores acumula dos(mg)	U:% dosis excretada
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		
3	0.175	1.950	314.0	0.414	0.75
6	0.223	2.570	521.5	0.836	2.01
9	0.169	1.870	347.5	1.184	2.84
12	0.129	1.350	296.5	1.481	3.56
15	0.042	0.220	103.5	1.585	3.81
24	0.038	0.169	92.5	1.678	4.03
33	0.053	0.360	91.0	1.769	4.25

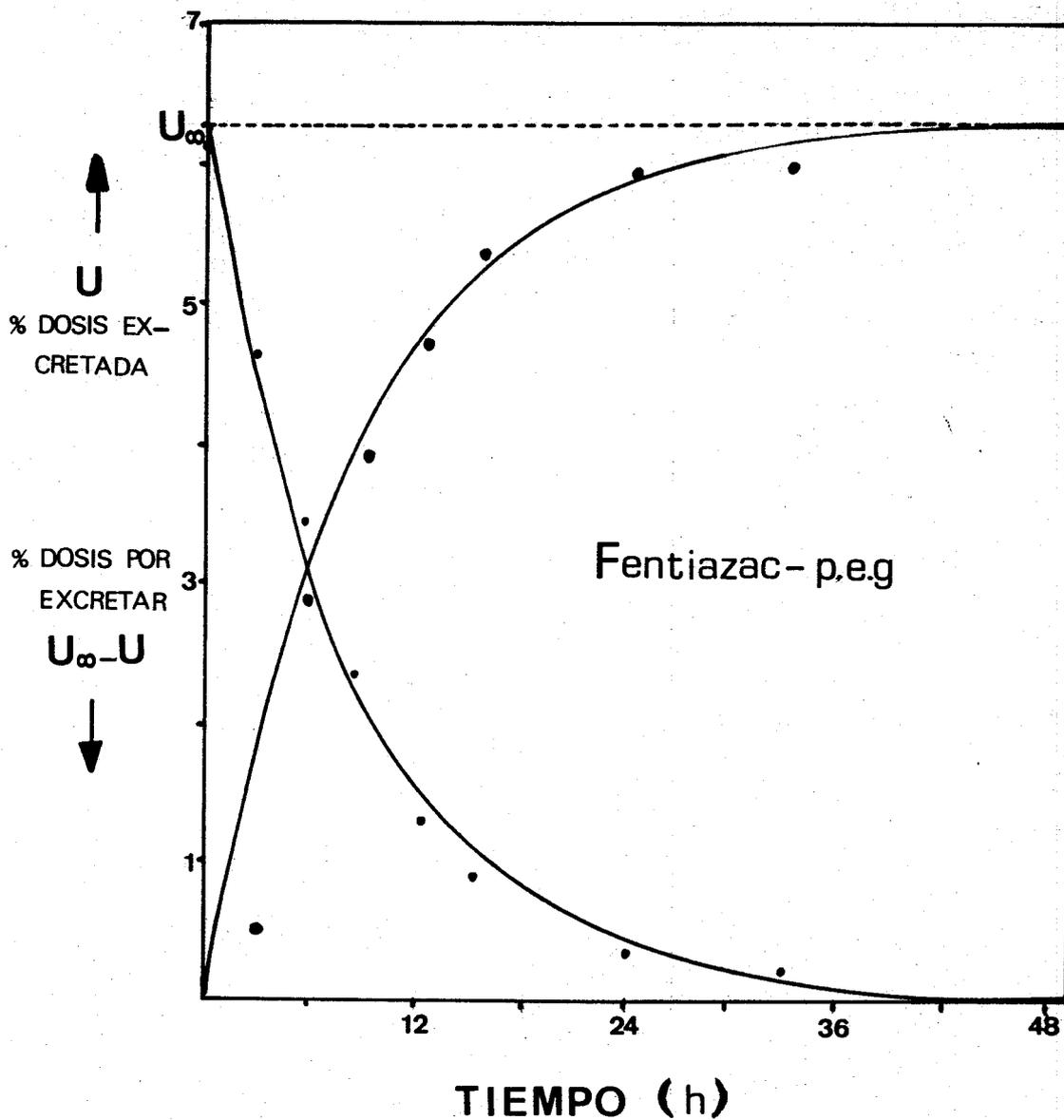
Datos extraídos a partir del Fentiazac formulado en excipiente emulsionado

FIG. 14



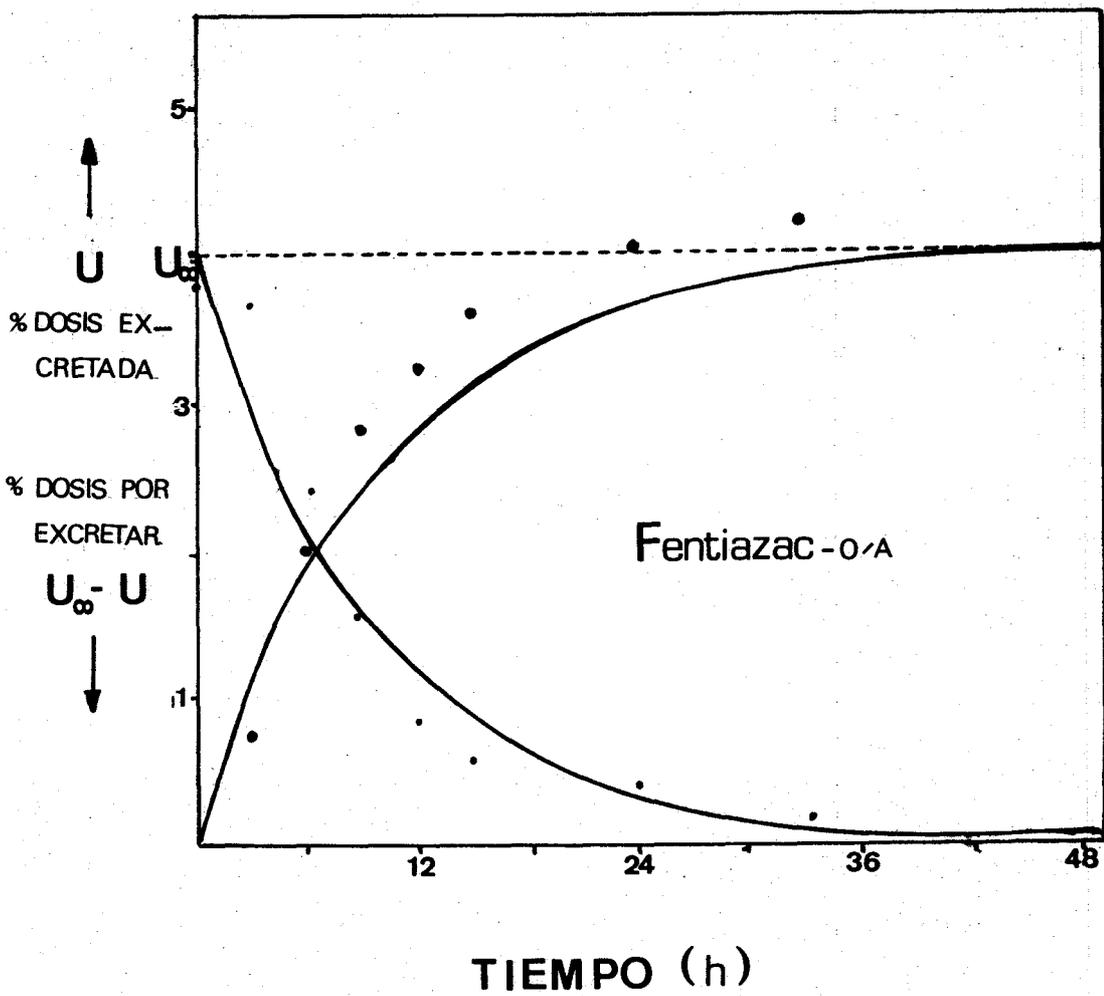
Curvas de excreción urinaria acumulativas del Fentiazac ácido en función del gel acuoso.

FIG 15



Curvas de excreción urinaria acumulativas del Fentiazac ácido en función del excipiente anhidro.

FIG. 16



Curvas de excreción urinaria acumulativas del Fentiazac ácido en función del excipiente emulsionado.

TABLA 39

 $U_{\infty} - U(\%)$  después de (h):

EXCIPIENTE	$U_{\infty}$ (%)	3	6	9	12	15	24	33
Gel acuoso	5.8	5.31	3.75	2.77	1.86	1.11	0.34	0.20
Excipiente anhidro	6.2	5.69	3.34	2.33	1.49	0.85	0.29	0.20
Emulsión O/A	4.4	3.65	2.39	1.56	0.84	0.59	0.37	0.15

Cantidades por excretar ( $U_{\infty} - U$ ) y máxima excretable ( $U_{\infty}$ ) de Fentiazac ácido en función de la formulación

A partir de los porcentajes de fármaco excretado para cada preparado y en función del tiempo, se trazaron las curvas de excreción acumulativas (Fig. 14, 15 y 16). deduciéndose de forma gráfica los valores de  $U_{\infty}$  (máxima cantidad excretable a tiempo infinito) y por ellos, las cantidades de Fentiazac ácido por excretar (Tabla 39). Al representarlas igualmente frente al tiempo, dieron lugar a curvas exponenciales (Fig. 14, 15 y 16) que se rectificaron cuando los citados remanentes tomaron expresión logarítmica (Fig. 17, 18 y 19).

Las ecuaciones teóricas de las rectas de regresión (por el método de los mínimos cuadrados) de la función lo-

garítmica de los residuales frente al tiempo, quedan recogidas en las tablas 40, 41 y 42. Las ecuaciones de las curvas de excreción acumulativa se muestran en la tabla 43.

TABLA 40

$$a = k_u/2.303 = -4.87 \times 10^{-2}$$

$$b = \log U_\infty = 0.826$$

$$r = -0.991$$

$$Y = -4.87 \times 10^{-2} X + 0.826$$

$$Y : \log(U_\infty - U)$$

$$X : \text{tiempo}$$

$$P < 0.001$$

Cálculo de la recta de regresión para las cantidades remanentes de Fentiazac ácido en función del Gel acuoso.

TABLA 41

$$a = k_u/2.303 = -4.99 \times 10^{-2}$$

$$b = \log U_\infty = 0.799$$

$$r = -0.984$$

$$Y = -4.99 \times 10^{-2} X + 0.799$$

$$Y = \log(U_\infty - U)$$

$$X = \text{tiempo}$$

$$P < 0.001$$

Cálculo de la recta de regresión para las cantidades remanentes de Fentiazac ácido en función del excipiente anhidro.

TABLA 42

$$a = k_d/2.303 = -4.53 \times 10^{-2}$$

$$b = \log U_{\infty} = 0.605$$

$$r = -0.983$$

$$Y = -4.53 \times 10^{-2} X + 0.605$$

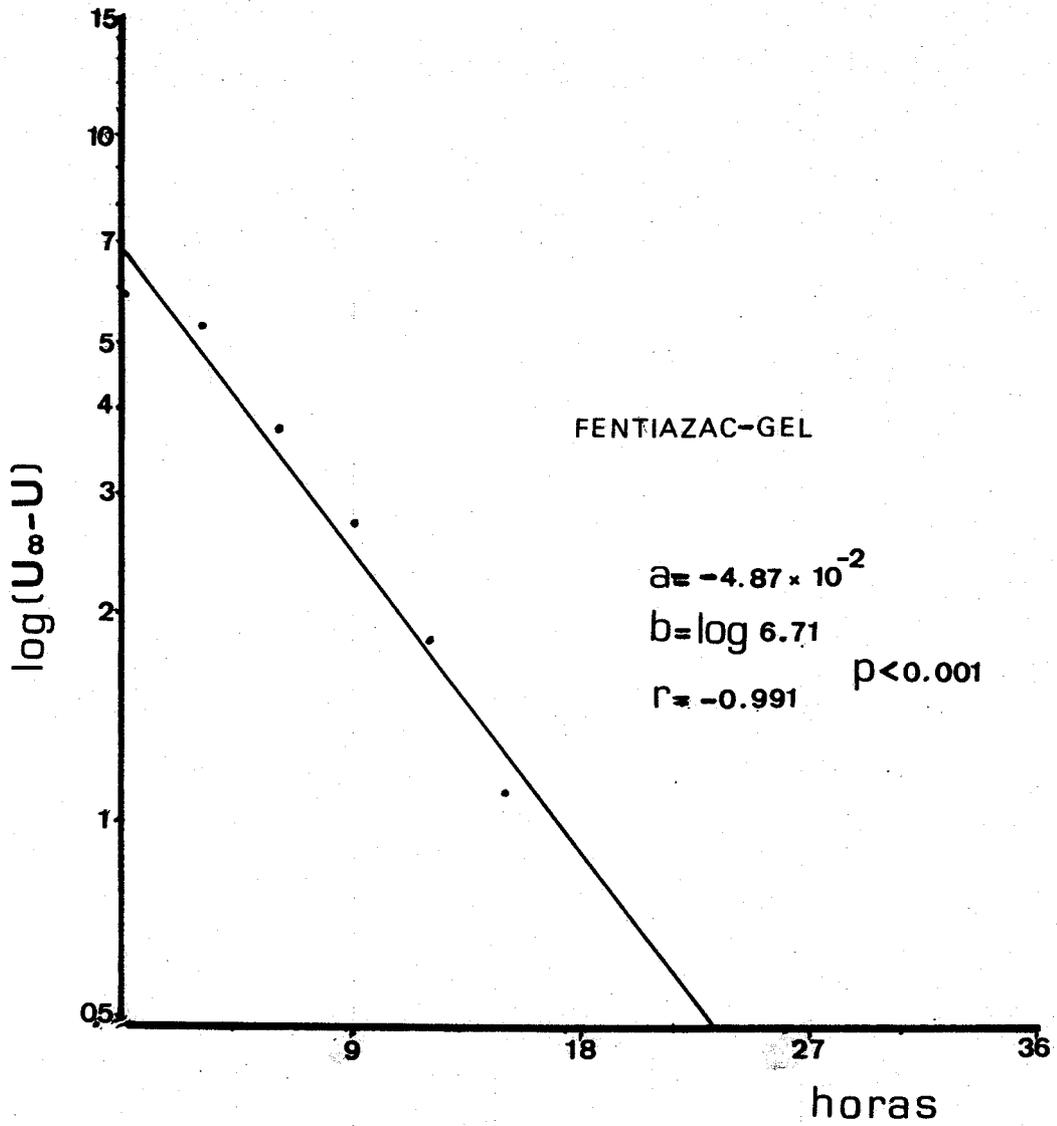
$$Y : \log (U_{\infty} - U)$$

$$X : \text{tiempo}$$

$$P < 0.001$$

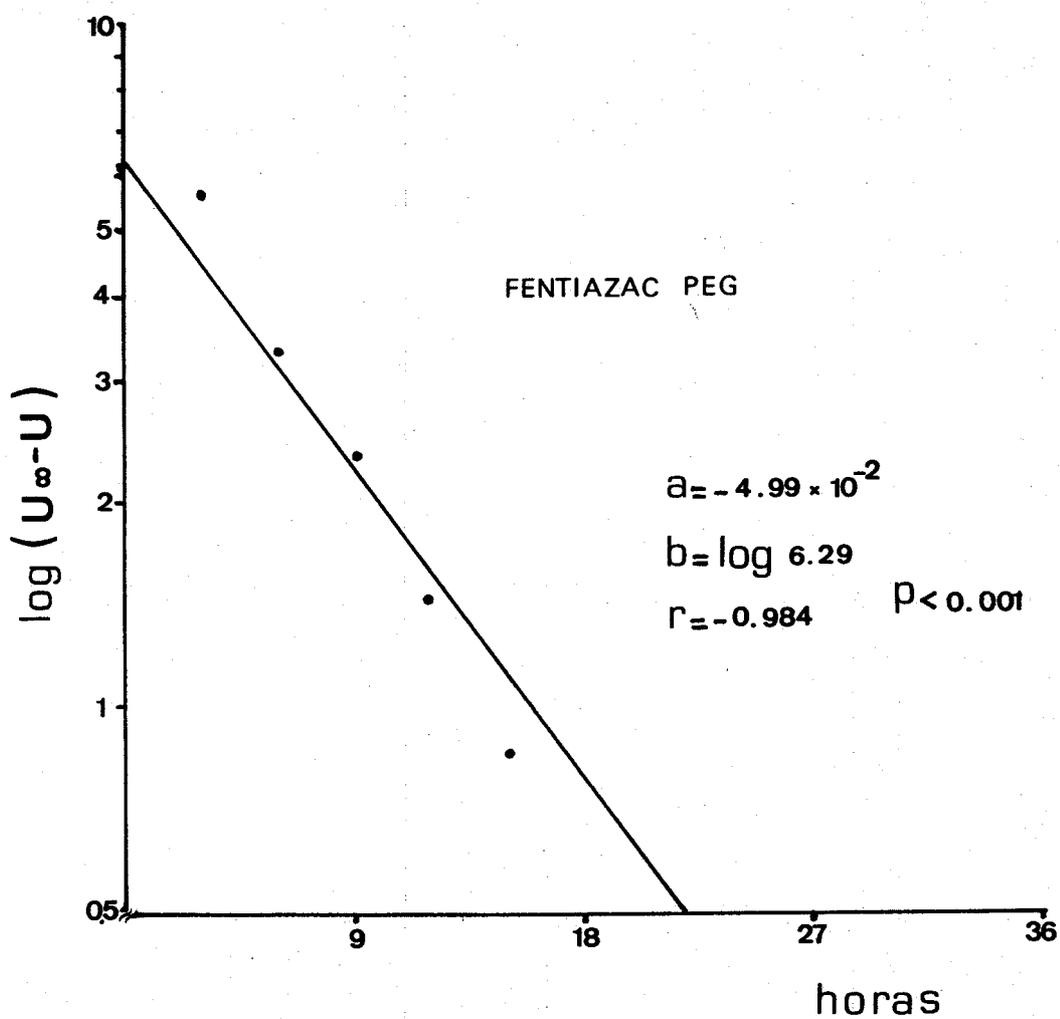
Cálculo de la recta de regresión para las cantidades remanentes de Fentiazac ácido en función del excipiente emulsionado.

FIG.17



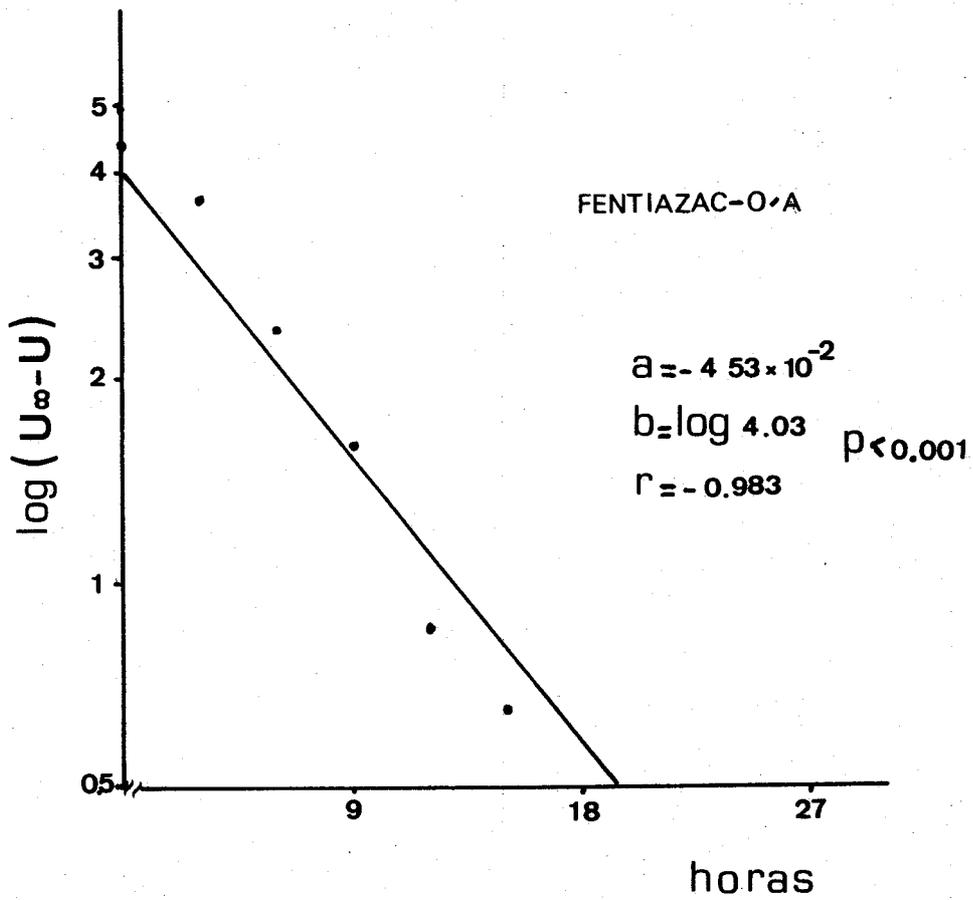
Recta de regresión para las cantidades residuales del Fentiazac ácido en función del gel acuoso.

FIG.18



Recta de regresión para las cantidades residuales del Fentiazac ácido en función del excipiente anhidro.

FIG. 19



Recta de regresión para las cantidades residuales de Fentiazac ácido en función del excipiente emulsionado.

FENTIAZAC ACIDOEn gel acuoso:

<u>EQUACION GRAL. PROCESO</u>	<u>EQUACION REMA NENTES</u>	<u>Cte. eliminación urinaria: <math>k_u</math> (<math>h^{-1}</math>)</u>
$U=6.71(1-e^{-k_u \cdot t})$	$6.71-U=6.71 \cdot e^{-k_u \cdot t}$	0.1121

En excipiente anhidro:

<u>EQUACION GRAL PROCESO</u>	<u>EQUACION REMA NENTES</u>	<u>Cte. eliminación urinaria: <math>k_u</math> (<math>h^{-1}</math>)</u>
$U=6.29(1-e^{-k_u \cdot t})$	$6.29-U=6.29 \cdot e^{-k_u \cdot t}$	0.1149

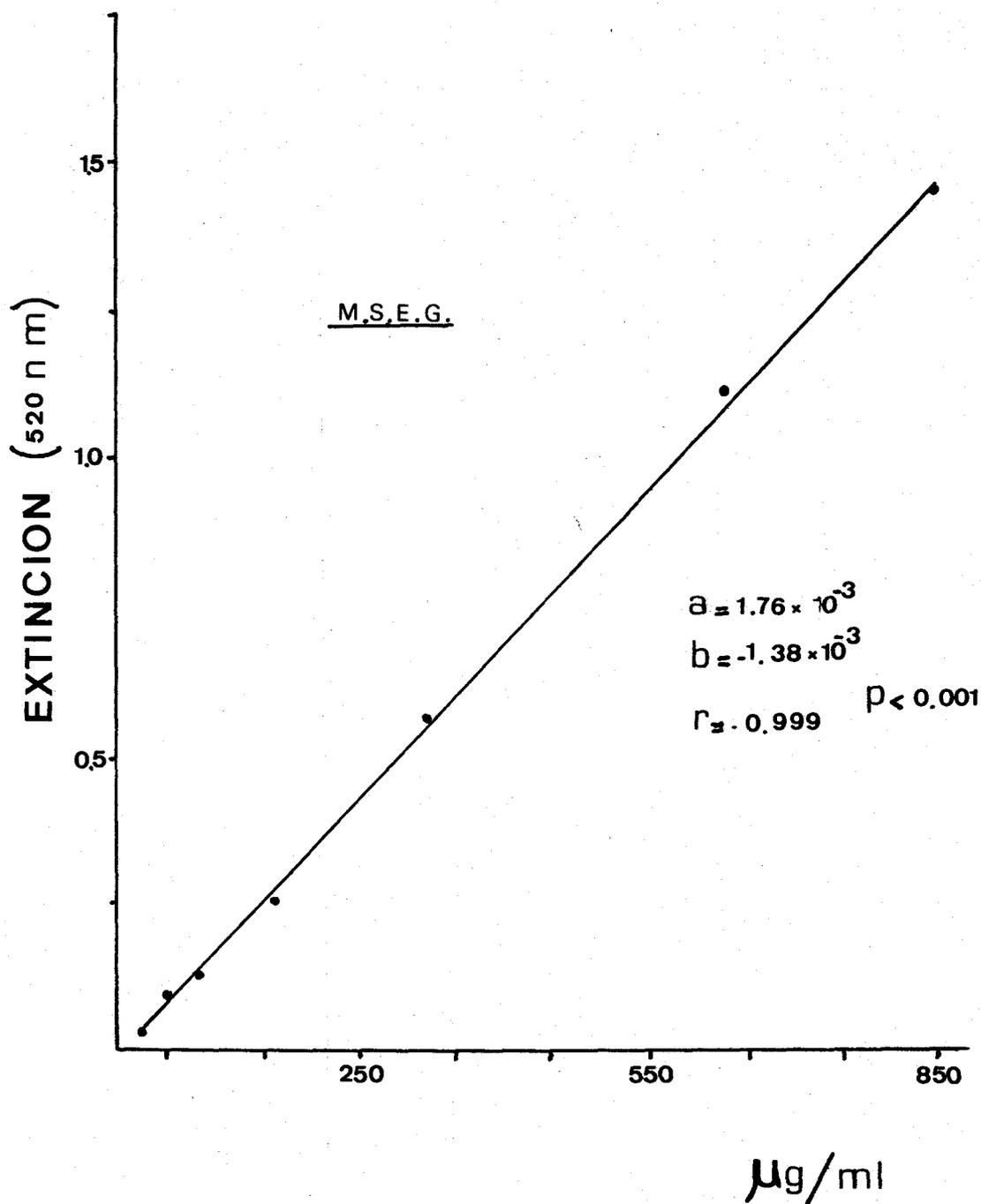
En excipiente emulsionado:

<u>EQUACION GRAL PROCESO</u>	<u>EQUACION REMA NENTES</u>	<u>Cte. eliminación urinaria: <math>k_u</math> (<math>h^{-1}</math>)</u>
$U=4.03(1-e^{-k_u \cdot t})$	$4.03-U=4.03 \cdot e^{-k_u \cdot t}$	0.1044

TABLA 43

Ecuaciones de las curvas de excreción acumulativa para los distintos preparados tópicos de Fentiazac ácido.

FIG. 20



Representación de la recta de calibración típica para la valoración colorimétrica del ión salicílico total excretado en la orina.

## II.2 Monosalicilato de Etilenglicol (M.S.E.G.)

TABLA 44

$$a = 1.76 \times 10^{-3}$$

$$b = - 1.38 \times 10^{-3}$$

$$r = 0.999$$

$$Y = 1.76 \times 10^{-3} X - 1.38 \times 10^{-3}$$

X: concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )  
 Y: extinción experimental (520 nm)

P < 0.001

Recta de calibración típica para la valoración del M.S.E.G. excretado en la orina.

TABLA 45

Tiempos (H)	Extincio- nes (520 nm)	Conc. Dia- lizado ( $\mu\text{g/ml}$ )	mg total orina	Valores acumula- dos (mg)	U:% dosis excretada
	$\bar{X}$	$\bar{X}$	$\bar{X}$		
3	0.055	32.12	0.44	0.44	1.06
6	0.415	237.22	3.92	4.36	10.47
9	0.425	242.91	3.24	7.60	18.25
12	0.234	134.01	2.93	10.53	25.28
15	0.128	73.71	1.81	12.34	29.63
24	0.012	7.63	1.71	14.05	33.73
33	0.012	7.63	1.00	15.05	36.09

Datos extraídos a partir del M.S.E.G. formulado en gel acuoso.

TABLA 46

Tiempos (H)	Extincio nes (520 nm)	Conc. Dia lizado ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	mg total orina	Valores acumula dos(mg)	U:% dosis excretada
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		
3	0.042	24.72	0.25	0.25	0.60
6	0.391	223.54	2.41	2.66	6.38
9	0.327	187.08	2.21	4.87	11.69
12	0.243	139.23	1.72	6.59	15.82
15	0.190	109.03	0.88	7.47	17.93
24	0.131	75.42	0.83	8.30	19.93
33	0.081	47.12	0.39	8.69	20.86

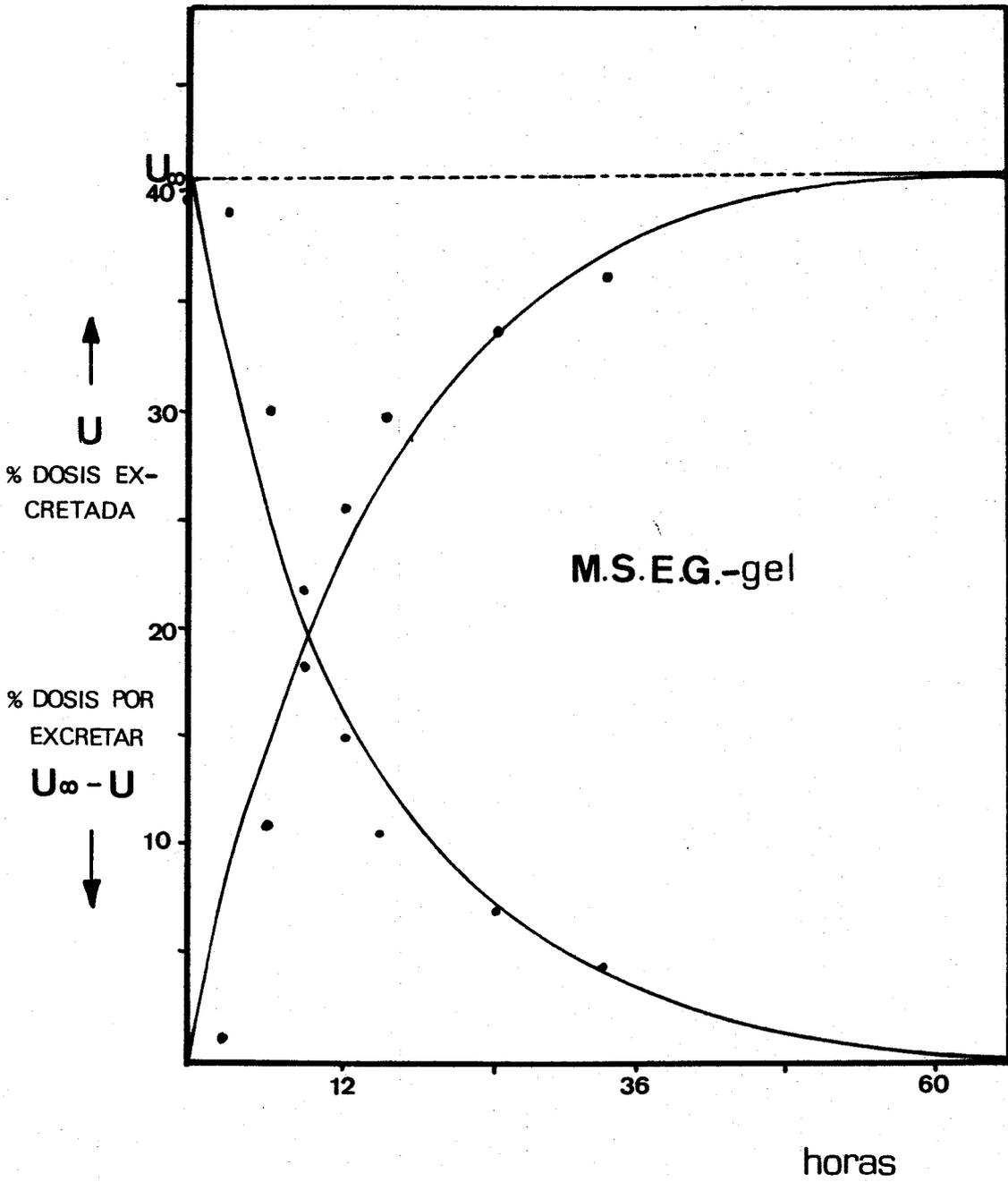
Datos extraídos a partir del M.S.E.G. formulado en excipientes anhidro

TABLA 47

Tiempos (H)	Extincio nes (520 nm)	Conc. Dia lizado ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	mg total orina	Valores acumula dos(mg)	U:% dosis excretada
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$		
3	0.059	34.40	0.76	0.76	1.82
6	0.238	136.38	3.17	3.93	9.44
9	0.154	86.94	2.74	6.67	16.01
12	0.428	244.62	1.94	8.61	20.67
15	0.105	60.61	1.67	10.28	24.68
24	0.072	41.81	0.83	11.11	26.67
33	N.D.	-	-	11.11	26.67

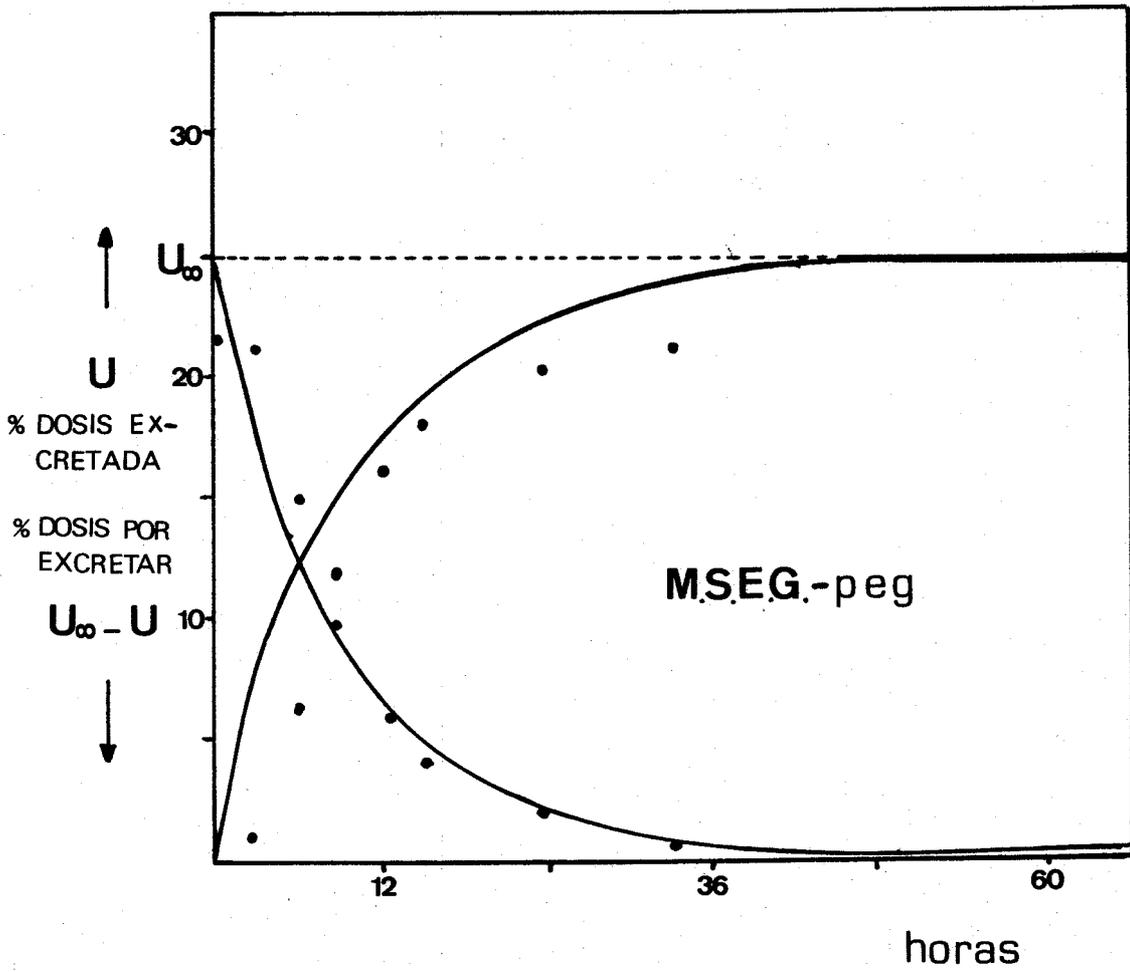
Datos extraídos a partir del M.S.E.G. formulado en excipiente emulsionado

FIG. 21



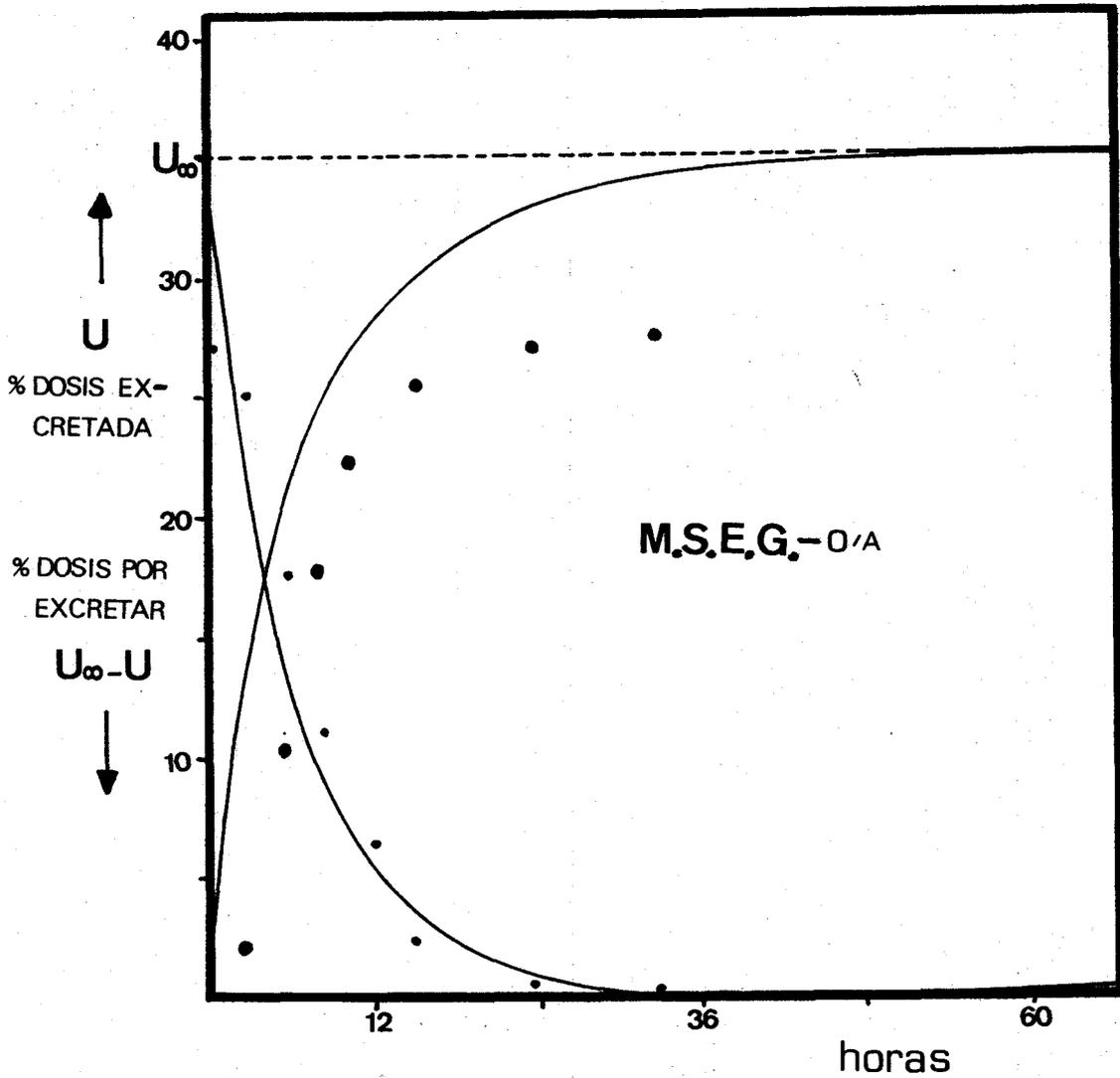
Curvas de excreción urinaria acumulativas del M.S.E.G. en función del gel acuoso.

FIG. 22



Curvas de excreción urinaria acumulativas del M.S.E.G. en función del excipiente anhidro.

FIG. 23



Curvas de excreción urinaria acumulativas del M.S.E.G. en función del excipiente emulsionado.

El trazado de curvas, ecuaciones correspondientes y demás cálculos realizados sobre las cantidades de ión salicílico total, excretado por orina, se llevaron a cabo según el procedimiento antes descrito para el Fentiazac ácido.

TABLA 48

$U_{\infty} - U(\%)$  después de (h):

(*)	$U_{\infty}(\%)$	3	6	9	12	15	24	33
GEL	40.0	38.94	29.53	15.75	14.72	10.37	6.27	3.91
PEG	21.5	20.90	15.12	9.81	5.68	3.57	1.57	0.64
O/A	27.0	25.18	17.56	10.99	6.33	2.32	0.33	0.33

Cantidades por excretar ( $U_{\infty} - U$ ) y máxima excretable ( $U_{\infty}$ ) de M.S.E.G. en función de la formulación

(\*) Léase respectivamente, preparado en gel acuoso, excipiente anhidro y emulsionado.

TABLA 49

$$a = k_u/2.303 = -3.24 \times 10^{-2}$$

$$b = \log U_{\infty} = 1.608$$

$$r = -0.963$$

$$Y = -3.24 \times 10^{-2} X + 1.608$$

Y :  $\log (U_{\infty} - U)$

X : tiempo

$$P < 0.001$$

Cálculo de la recta de regresión para las cantidades remanentes de M.S.E.G. en función del gel acuoso.

TABLA 50

$$a = k_u/2.303 = -4.94 \times 10^{-2}$$

$$b = \log U_{\infty} = 1.397$$

$$r = -0.992$$

$$Y = -4.94 \times 10^{-2} X + 1.397$$

Y :  $\log (U_{\infty} - U)$

X : tiempo

$$P < 0.001$$

Cálculo de la recta de regresión para las cantidades remanentes de M.S.E.G. en función del excipiente anhidro.

TABLA 51

$$a = k_d/2.303 = -6.88 \times 10^{-2}$$

$$b = \log U_{\infty} = 1.542$$

$$r = -0.968$$

$$Y = -6.88 \times 10^{-2} X + 1.542$$

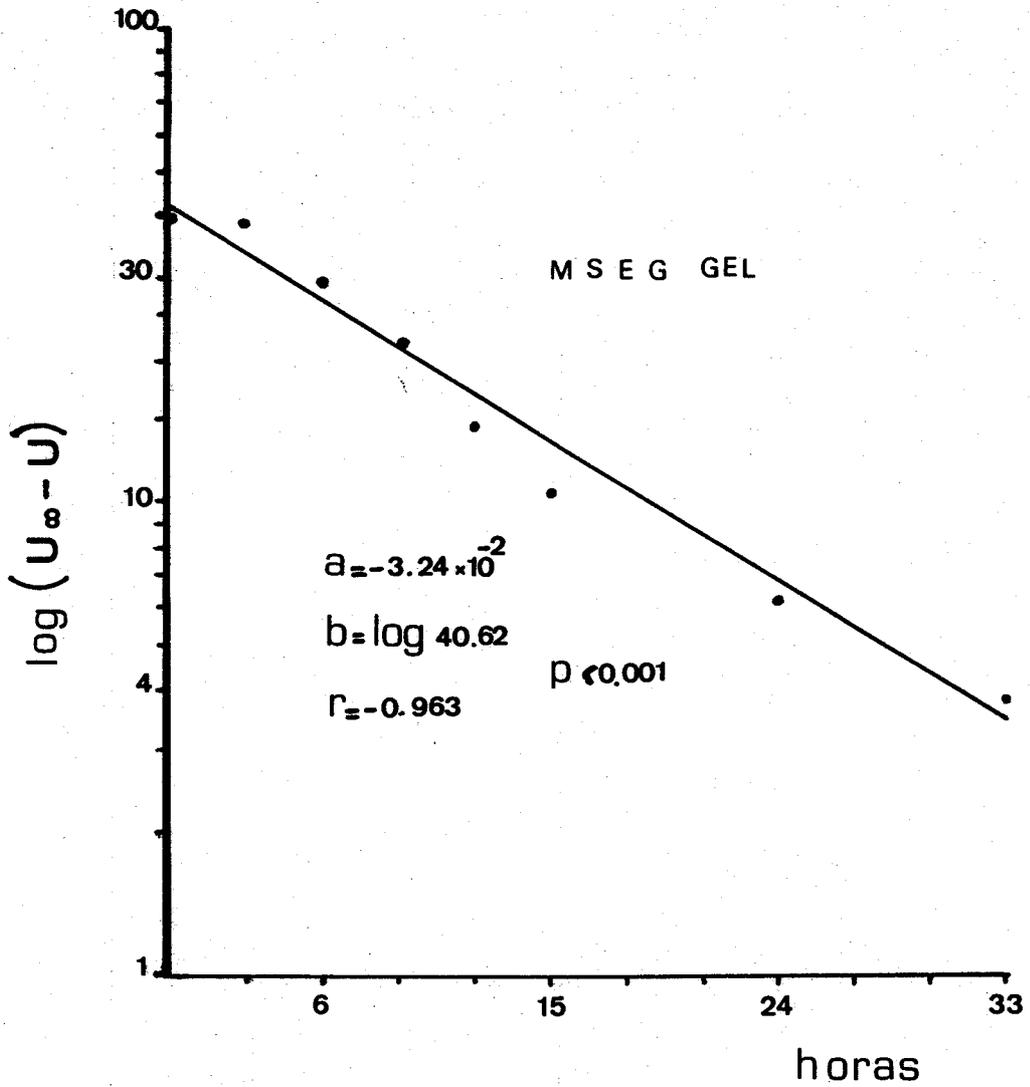
Y :  $\log (U_{\infty} - U)$

X : tiempo

$$P < 0.001$$

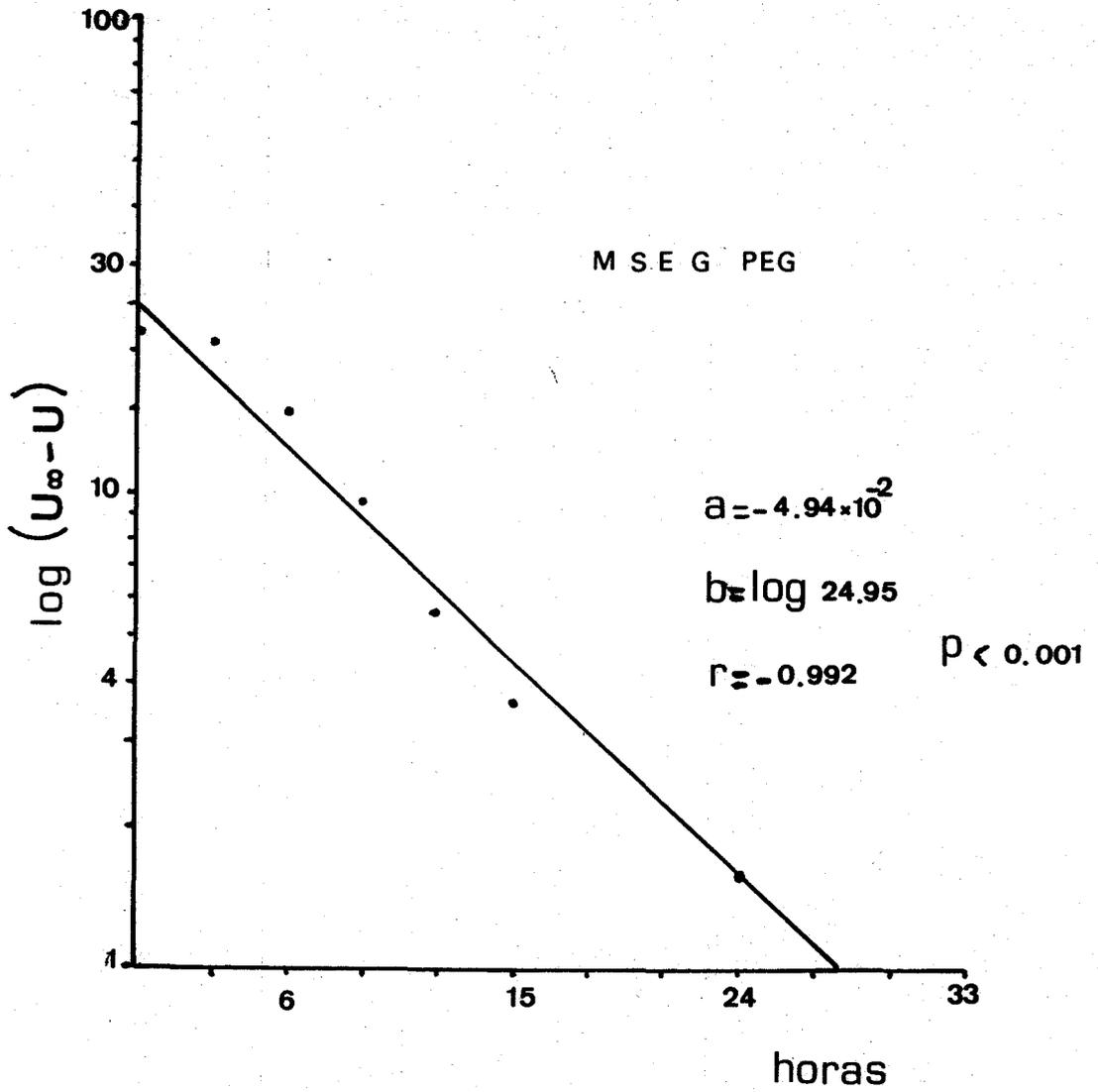
Cálculo de la recta de regresión para las cantidades remanentes de M.S.E.G. en función de la emulsión O/A.

FIG. 24



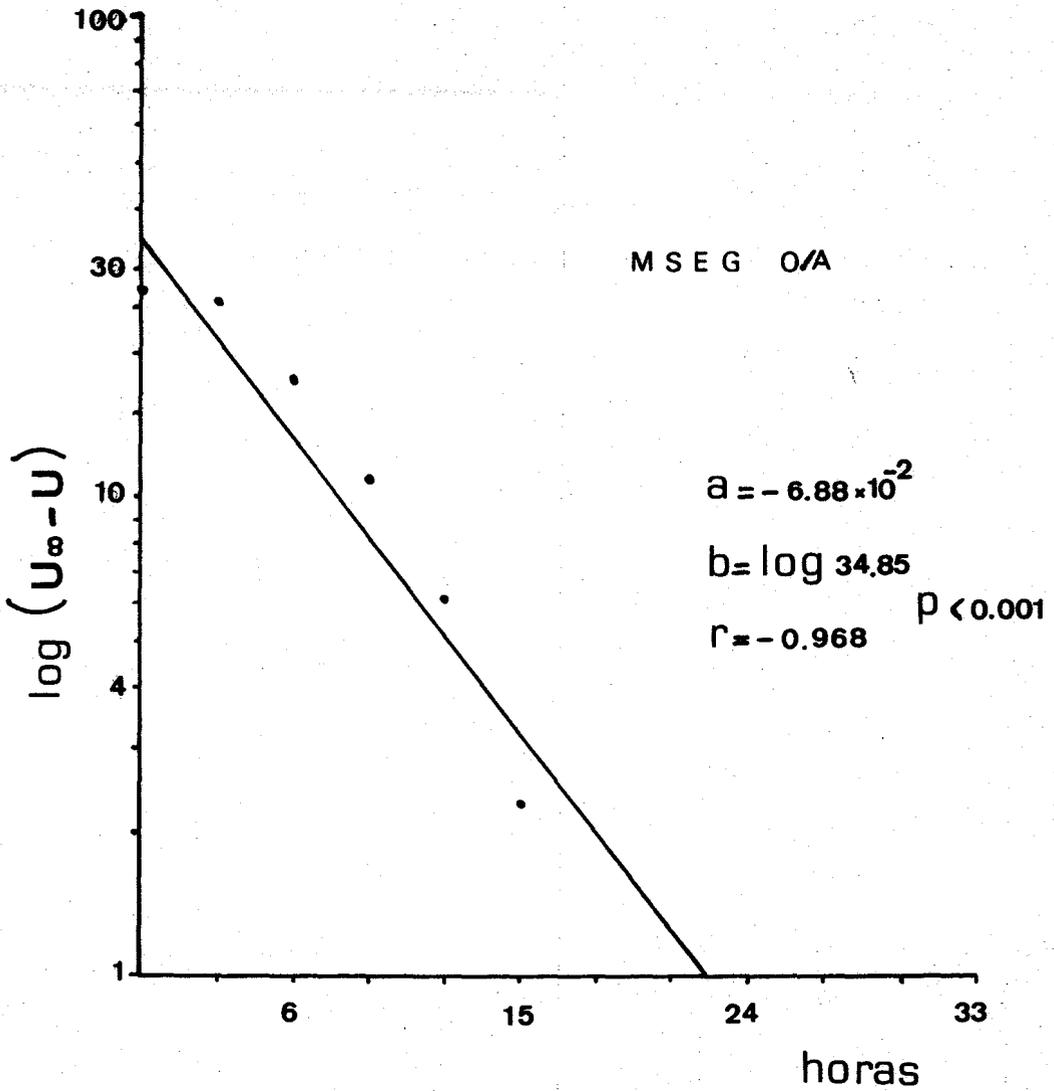
Recta de regresión para las cantidades residuales del M.S.E.G. en función del gel acuoso.

FIG. 25



Recta de regresión para las cantidades residuales del M.S.E.G. en función del excipiente anhidro.

FIG. 26



Recta de regresión para las cantidades residuales del M.S.E.G. en función del excipiente emulsionado.

MONOSALICILATO DE ETILENGLICOL

En gel acuoso:

<u>ECUACION GRAL. PROCESO</u>	<u>ECUACION REMA NENTES</u>	<u>Cts. eliminación urinaria: <math>k_u</math> (<math>h^{-1}</math>)</u>
$U=40.62(1-e^{-k_u \cdot t})$	$40.62-U=40.62 \cdot e^{-k_u \cdot t}$	0.0745

En excipiente anhidro:

<u>ECUACION GRAL. PROCESO</u>	<u>ECUACION REMA NENTES</u>	<u>Cts. eliminación urinaria: <math>k_u</math> (<math>h^{-1}</math>)</u>
$U=24.95(1-e^{-k_u \cdot t})$	$24.95-U=24.95 \cdot e^{-k_u \cdot t}$	0.1139

En excipiente emulsionado:

<u>ECUACION GRAL. PROCESO</u>	<u>ECUACION REMA NENTES</u>	<u>Cts. eliminación urinaria: <math>k_u</math> (<math>h^{-1}</math>)</u>
$U=34.85(1-e^{-k_u \cdot t})$	$34.85-U=34.85 \cdot e^{-k_u \cdot t}$	0.1584

TABLA 52

Ecuaciones de las curvas de excreción acumulativa  
para los distintos preparados tópicos de M.S.E.G.

**E. DE EXTENSIBILIDAD**

## III.1 Excipientes

TABLA 53

PESOS (g)	GEL ACUOSO		EXC. ANHIDRO		EMULSION O/A	
	$\bar{X}$	D.S.	$\bar{X}$	D.S.	$\bar{X}$	D.S.
50	3.82	0.02	1.48	0.01	4.25	0.04
100	3.89	0.02	2.21	0.03	4.54	0.09
150	3.91	0.01	2.52	0.02	4.68	0.13
300	3.93	0.06	3.05	0.07	4.83	0.02
500	3.95	0.03	3.34	0.05	4.99	0.02

Extensibilidad de los distintos excipientes en función del peso.

Sobre estas determinaciones se realizaron pruebas estadísticas. La clasificación previa a estos cálculos fué:

$E_1$ : Excipiente gel acuoso

$E_2$ : Excipiente anhidro

$E_3$ : Excipiente emulsión O/A

TABLA 54

<u>PESOS (g)</u>	<u>GRUPO</u>	<u>F</u>
100	E <sub>1</sub>	44.46
	E <sub>2</sub>	
	E <sub>3</sub>	
150	E <sub>1</sub>	1447.34
	E <sub>2</sub>	
	E <sub>3</sub>	
300	E <sub>1</sub>	55.70
	E <sub>2</sub>	
	E <sub>3</sub>	
500	E <sub>1</sub>	798.59
	E <sub>2</sub>	
	E <sub>3</sub>	

F (2,12,0,01): 6.93  
P < 0.01

Análisis de la varianza entre los grupos de excipientes en relación a su extensibilidad.

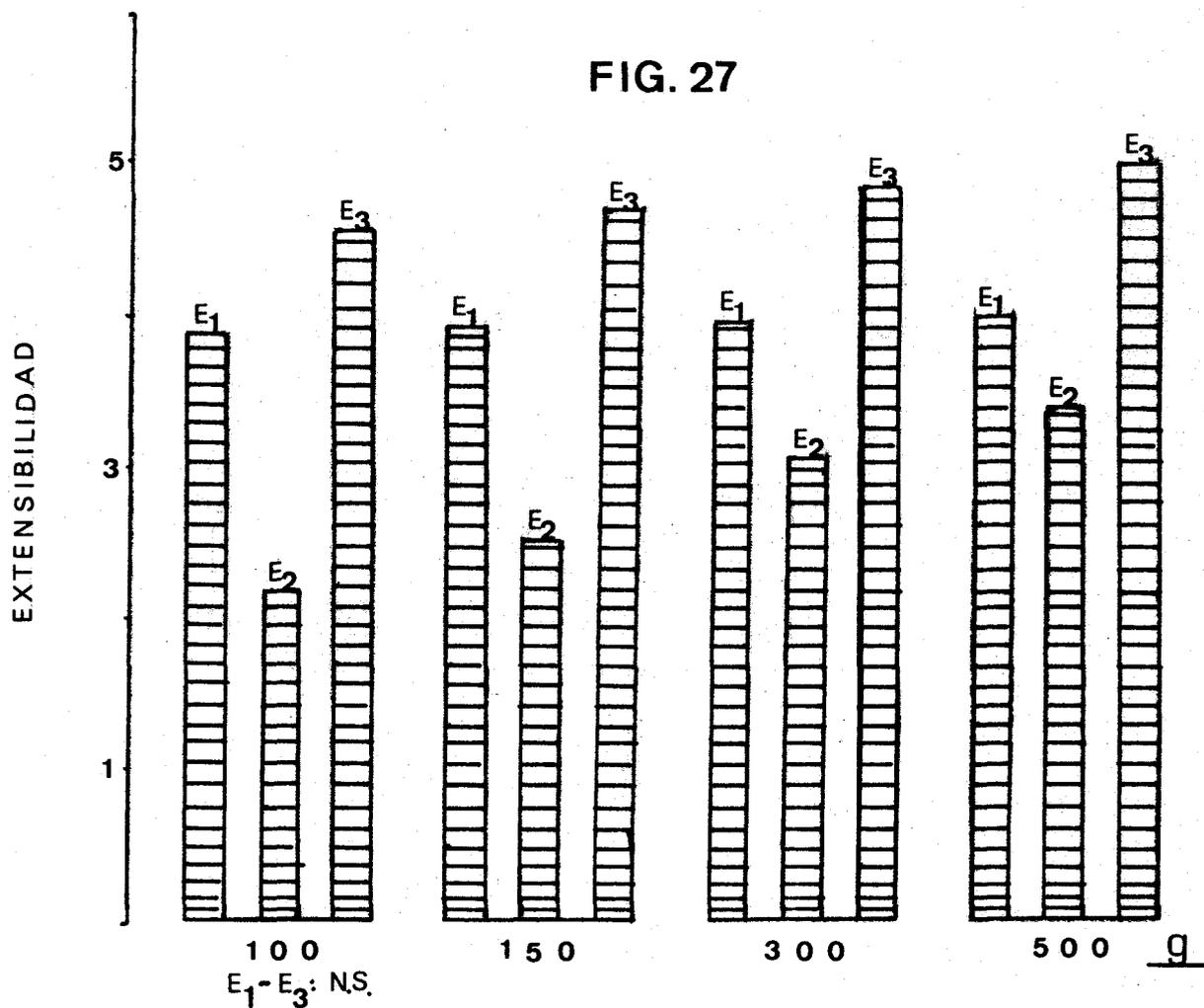
TABLA 55

	RELACION ENTRE GRUPOS		
	<u>E<sub>1</sub> - E<sub>2</sub></u>	<u>E<sub>2</sub> - E<sub>3</sub></u>	<u>E<sub>1</sub> - E<sub>3</sub></u>
F (100 g)	21.69	41.74	3.25
F (150 g)	583.36	1408.69	179.01
F (300 g)	13.63	55.78	14.26
F (500 g)	106.92	782.33	310.80

F (2,12,0,01): 6.93  
P < 0.01

Prueba de Scheffé

FIG. 27



E<sub>1</sub> GEL  
 E<sub>2</sub> PEG  
 E<sub>3</sub> O/A

$F > F(2,12,0.01)$

$P < 0.01$

Extensibilidad de los distintos excipientes en función del peso depositado.

## III.2 Pomadas

TABLA 56

PESOS (g)	GEL ACUOSO		EXC. ANHIDRO		EMULSION O/A	
	$\bar{X}$	D.S.	$\bar{X}$	D.S.	$\bar{X}$	D.S.
50	1.65	0.06	1.20	0.11	3.75	0.06
100	1.97	0.08	2.20	0.02	3.81	0.04
150	2.45	0.03	2.52	0.11	3.83	0.05
300	3.35	0.07	2.97	0.05	3.93	0.02
500	3.50	0.03	3.30	0.05	4.09	0.16

Extensibilidad de las pomadas de Fentiazac  
ácido en función del peso

Sobre estos resultados se realizaron pruebas estadísticas, clasificándolos previamente en:

- FA<sub>1</sub>: Fentiazac en gel acuoso
- FA<sub>2</sub>: Fentiazac en excipiente anhidro
- FA<sub>3</sub>: Fentiazac en emulsión O/A

TABLA 57

<u>PEGOS (g)</u>	<u>GRUPO</u>	<u>F</u>
100	FA <sub>1</sub>	279.70
	FA <sub>2</sub>	
	FA <sub>3</sub>	
150	FA <sub>1</sub>	873.04
	FA <sub>2</sub>	
	FA <sub>3</sub>	
300	FA <sub>1</sub>	22.78
	FA <sub>2</sub>	
	FA <sub>3</sub>	
500	FA <sub>1</sub>	1366.19
	FA <sub>2</sub>	
	FA <sub>3</sub>	

F(2,12, 0.01):6.93  
P < 0.01

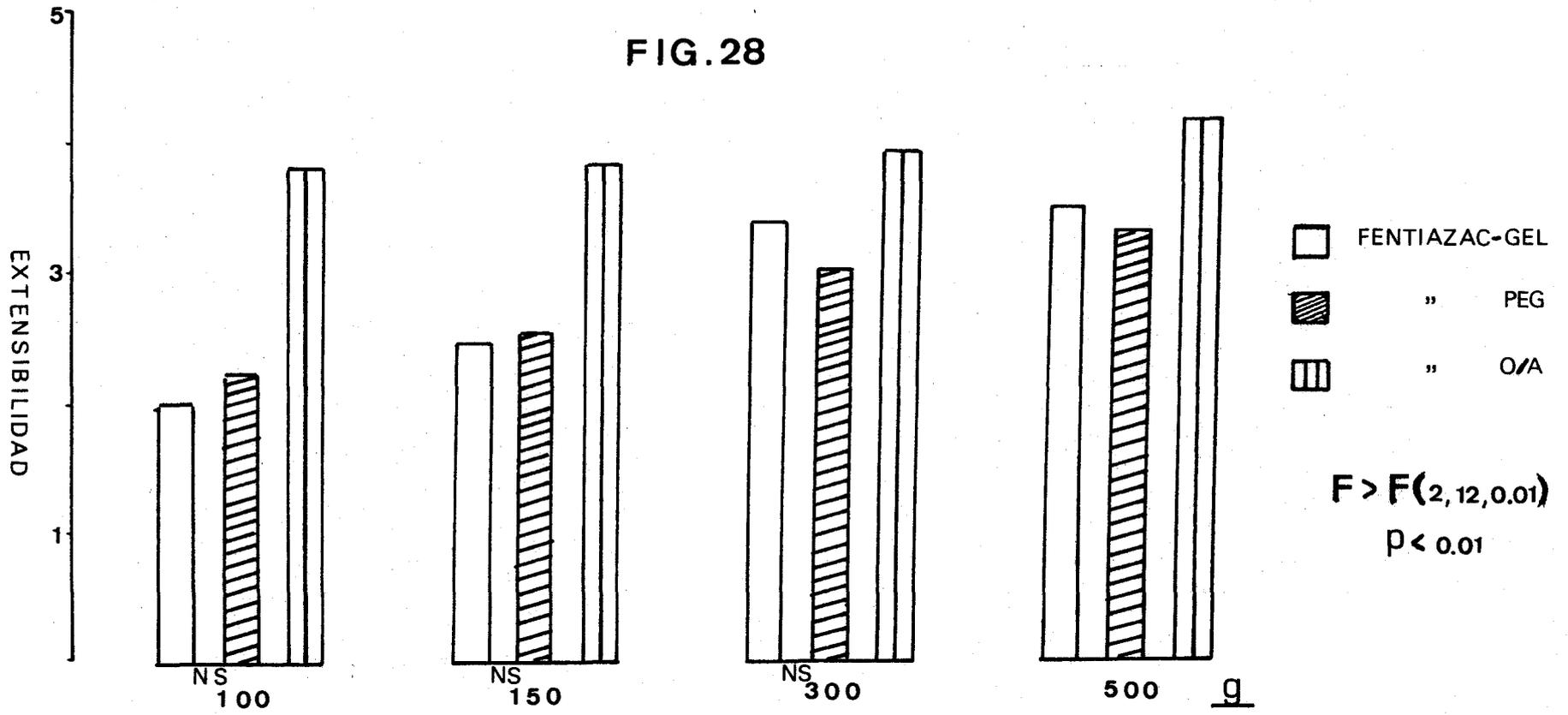
Análisis de la varianza entre los grupos de pomadas de Fentiazac ácido con relación a su extensibilidad

TABLA 58

	RELACION ENTRE GRUPOS		
	<u>FA<sub>1</sub> - FA<sub>2</sub></u>	<u>FA<sub>2</sub> - FA<sub>3</sub></u>	<u>FA<sub>1</sub> - FA<sub>3</sub></u>
F (100g)	6.61	324.01	423.20
F (150g)	1.77	619.98	688.00
F (300g)	3.52	22.46	8.20
F (500g)	82.24	1283.10	715.66

F(2,12, 0.01):6.93  
P < 0.01

Prueba de Scheffé



Extensibilidad de las pomadas de Fentiazac ácido en función del peso depositado.

TABLA 59

<u>PESOS (g)</u>	<u>GEL ACUOSO</u>		<u>EXC. ANHIDRO</u>		<u>EMULSION O/A</u>	
	$\bar{X}$	D.S.	$\bar{X}$	D.S.	$\bar{X}$	D.S.
50	2.07	0.13	1.04	0.04	3.79	0.31
100	3.03	0.14	1.58	0.04	4.09	0.33
150	3.32	0.07	1.84	0.02	4.20	0.01
300	3.66	0.05	2.25	0.03	4.40	0.18
500	3.81	0.07	2.26	0.02	4.67	0.70

Extensibilidad de las pomadas de Monosalicilato de Etilenglicol en función del peso.

Sobre estos resultados se realizaron pruebas estadísticas, clasificándolos previamente en:

- $M_1$ : M.S.E.G. en gel acuoso  
 $M_2$ : " en excipiente anhidro  
 $M_3$ : " en emulsión O/A

TABLA 60

<u>PESOS (g)</u>	<u>GRUPO</u>	<u>F</u>
100	M <sub>1</sub>	697.37
	M <sub>2</sub>	
	M <sub>3</sub>	
150	M <sub>1</sub>	733.19
	M <sub>2</sub>	
	M <sub>3</sub>	
300	M <sub>1</sub>	138.70
	M <sub>2</sub>	
	M <sub>3</sub>	
500	M <sub>1</sub>	410.37
	M <sub>2</sub>	
	M <sub>3</sub>	

F(2,12,0,01):6.93  
P < 0.01

Análisis de la varianza entre los grupos de pomadas de M.S.E.G. en relación a su extensibilidad.

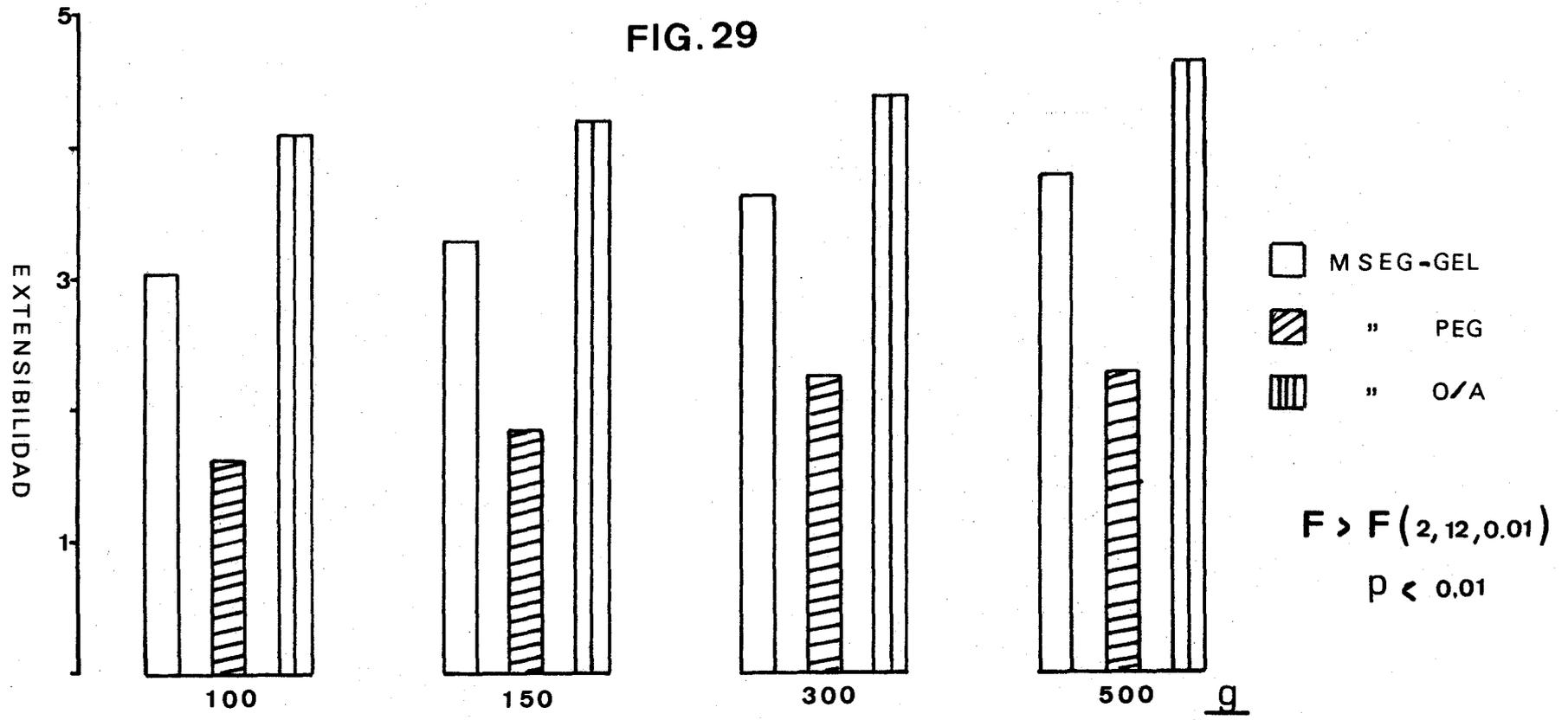
TABLA 61

## RELACION ENTRE GRUPOS

	<u>M<sub>1</sub> - M<sub>2</sub></u>	<u>M<sub>2</sub> - M<sub>3</sub></u>	<u>M<sub>1</sub> - M<sub>3</sub></u>
F (100 g)	230.94	692.01	123.42
F (150 g)	282.26	717.73	99.79
F (300 g)	57.78	134.35	15.91
F (500 g)	165.23	399.45	50.86

F(2,12,0,01):6.93  
P < 0.01

Prueba de Scheffé



Extensibilidad de las pomadas de M.S.E.G. en función del peso depositado.

III.3 Comparación de extensibilidad entre pomadas  
y excipientes y de pomadas entre sí.

TABLA 62

<u>Pesos (g)</u>	<u>Preparados dermatológicos</u>	<u>Variación del error experimental: <math>S^2</math></u>	<u><math>t_8</math></u>
100	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	0.013	14.699
	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.001	31.000
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	0.055	1.883
150	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	0.003	25.544
	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.006	13.600
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	0.001	16.225
300	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	0.004	8.058
	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.002	27.610
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	0.016	5.803
500	FA <sub>1</sub> - M <sub>1</sub>	0.003	9.102
	FA <sub>2</sub> - M <sub>2</sub>	0.001	43.184
	FA <sub>3</sub> - M <sub>3</sub>	0.258	1.806

$$t(8, 0.01) = 3.355$$

$$P < 0.01$$

Comparación de valores medios de extensibilidad  
entre los preparados de Fentiazac y M.S.E.G. en  
función de excipientes homólogos.

TABLA 63

Pesos (g)	Grupos	Variación del error experimental: $s^2$	$t_8$
100	$E_1 - FA_1$	$3.4 \times 10^{-3}$	53.148
	$E_2 - FA_2$	$6.5 \times 10^{-4}$	0.620
	$E_3 - FA_3$	$4.8 \times 10^{-3}$	16.574
150	$E_1 - FA_1$	$6.5 \times 10^{-4}$	90.545
	$E_2 - FA_2$	$6.2 \times 10^{-3}$	0.000
	$E_3 - FA_3$	$9.7 \times 10^{-3}$	13.646
300	$E_1 - FA_1$	$4.2 \times 10^{-3}$	14.067
	$E_2 - FA_2$	$3.7 \times 10^{-3}$	2.079
	$E_3 - FA_3$	$4.0 \times 10^{-4}$	71.151
500	$E_1 - FA_1$	$9.0 \times 10^{-4}$	23.717
	$E_2 - FA_2$	$2.5 \times 10^{-3}$	1.265
	$E_3 - FA_3$	$1.3 \times 10^{-2}$	12.481

$$t(8, 0.01) = 3.355$$

$$P < 0.01$$

Comparación de valores medios de extensibilidad entre excipientes y preparados correspondientes de Fentiazac ácido.

TABLA 64

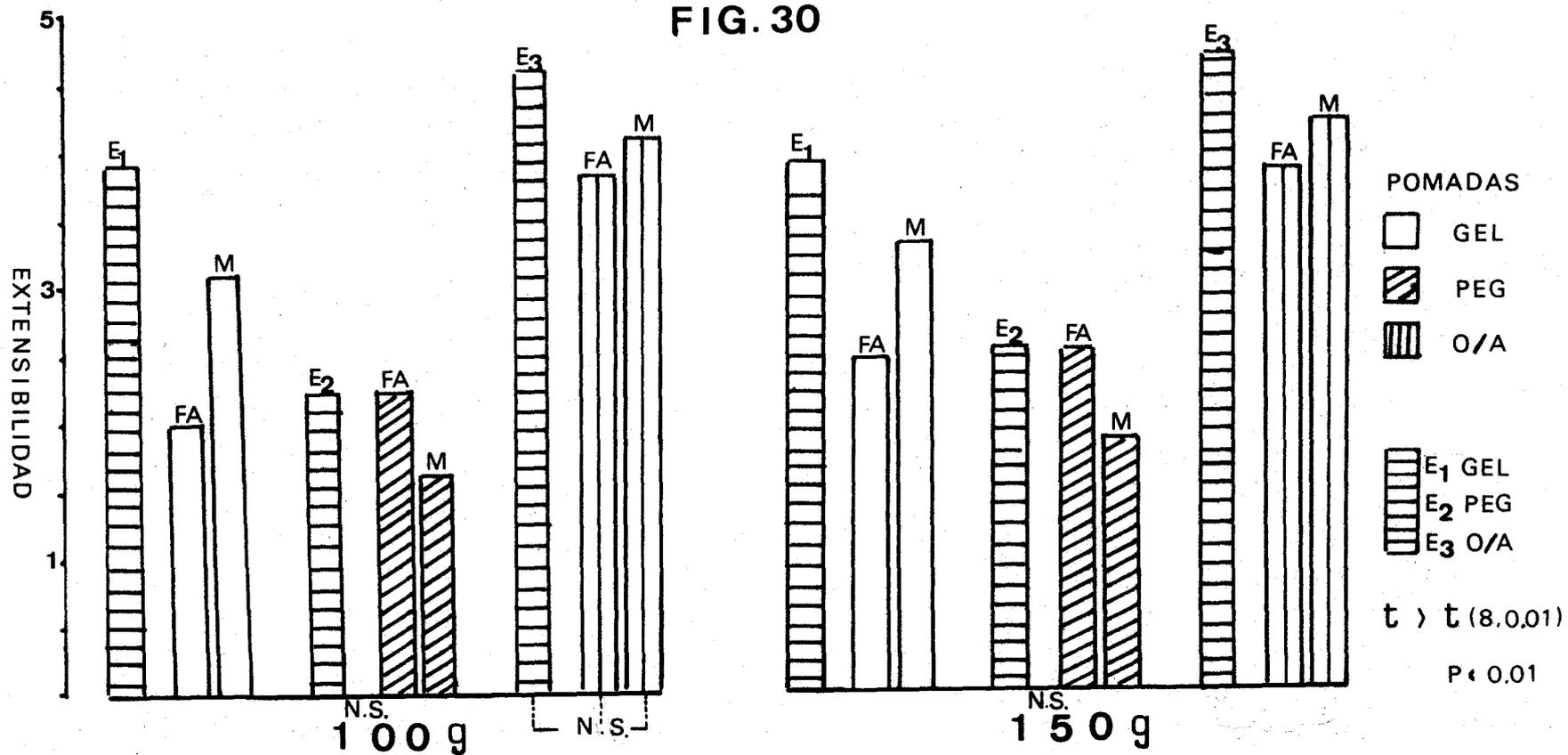
Pesos (g)	Grupos	Variación del error experimental: $s^2$	$t_8$
100	$E_1 - M_1$	0.01	13.598
	$E_2 - M_2$	$1.2 \times 10^{-3}$	28.174
	$E_3 - M_3$	$5.8 \times 10^{-2}$	2.942
150	$E_1 - M_1$	$2.5 \times 10^{-3}$	18.657
	$E_2 - M_2$	$4.0 \times 10^{-4}$	53.758
	$E_3 - M_3$	$8.5 \times 10^{-3}$	8.232
300	$E_1 - M_1$	$3.0 \times 10^{-3}$	7.730
	$E_2 - M_2$	$2.9 \times 10^{-3}$	23.489
	$E_3 - M_3$	$1.6 \times 10^{-2}$	5.309
500	$E_1 - M_1$	$2.9 \times 10^{-3}$	4.110
	$E_2 - M_2$	$1.4 \times 10^{-3}$	44.844
	$E_3 - M_3$	0.242	1.022

$$t(8, 0.01) = 3.355$$

$$P < 0.01$$

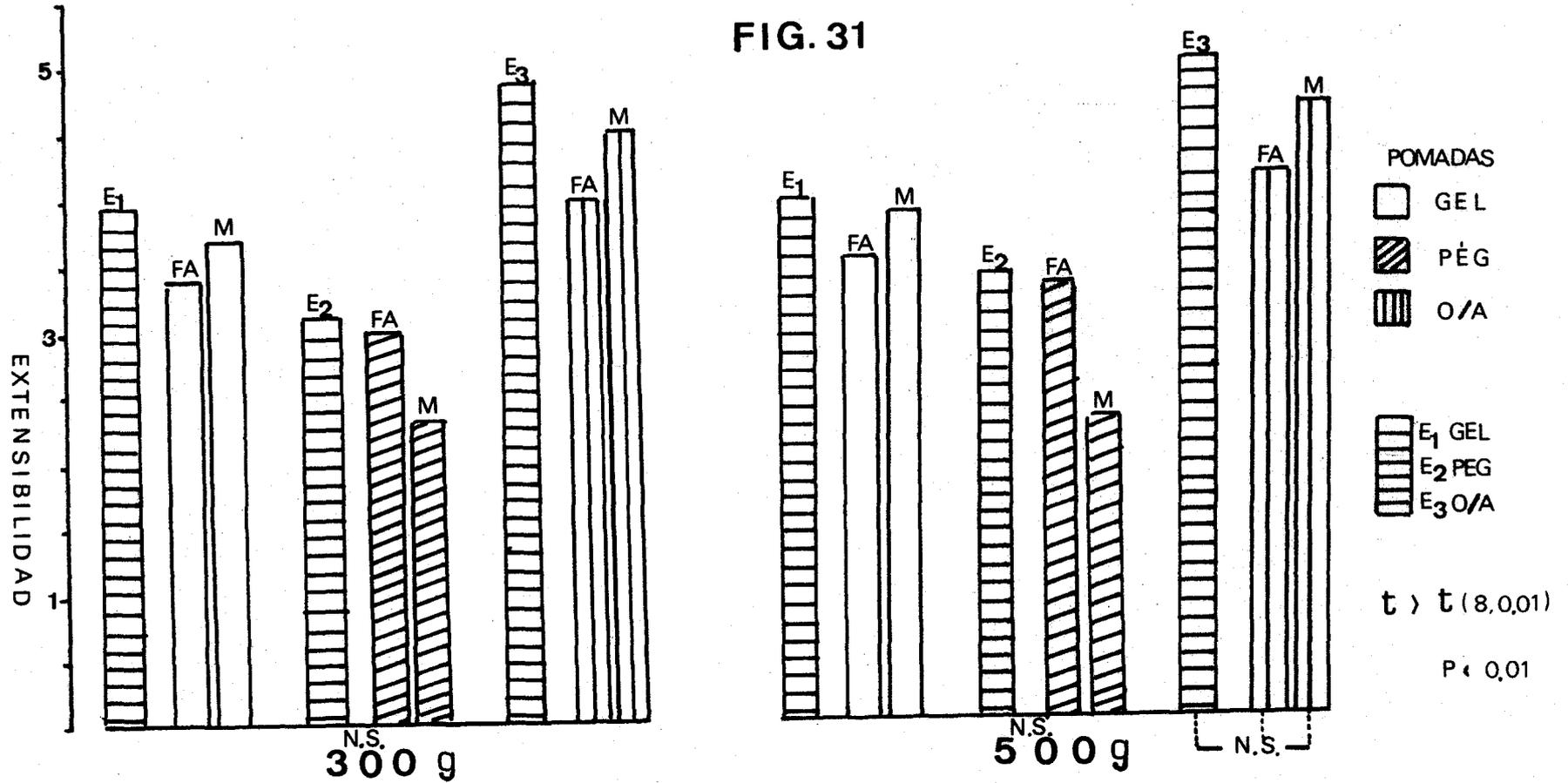
Comparación de valores medios de extensibilidad entre excipientes y preparados correspondientes de M.S.E.G.

FIG. 30



Comparación de la extensibilidad de pomadas ( Fentiazac ácido-M.S.E.G.) y excipientes, y de pomadas entre sí, en función de los pesos (100 y 150 g ).

FIG. 31



Comparación de la extensibilidad de pomadas (Fentiazac ácido-M.S.E.G.) y excipientes, y de pomadas entre sí, en función de los pesos (300 y 500 g).

### III.4 Relación Extensibilidad / Pesos

En todos los casos se omitió el resultado correspondiente a la acción del peso de la caja de Petri (50 gramos) (154).

TABLA 65

	<u>Coefficiente de correlación "r"</u>	<u>Pendiente recta "a"</u>	<u>Ordenada en origen "b"</u>
Gel acuoso	0.986	0.01	0.57
Fentiazac-Gel	0.970	0.37	-0.43
M.S.E.G.-Gel	0.982	0.14	0.21
Exc. Anhidro (PEG)	0.980	0.27	-0.19
Fentiazac-PEG	0.962	0.20	-0.04
M.S.E.G.-PEG	0.956	0.23	-0.25
Emulsión O/A	0.996	0.06	0.54
Fentiazac-O/A	0.956	0.04	0.49
M.S.E.G.-O/A	0.989	0.08	0.45

P < 0.05

Cálculo de los parámetros y relación entre las variables de la función:  $\log(\text{Ext}) = F(\log P)$  (\*)

(\*) Léase: Ext. = Extensibilidad.  
P = Peso

## **RESUMEN**

Los estudios biogalénicos de los preparados tópicos se llevan a cabo por metodología "in vitro" o "in vivo". - La finalidad perseguida en uno y otro caso es demostrar la importancia del excipiente en la biodisponibilidad de los fármacos (30,60,76,97,157,158).

Los resultados que hemos obtenido, mediante las - - pruebas de liberación con soporte sólido, demuestran además la influencia de los parámetros tiempo y temperatura - sobre los índices de difusión (Fig. 3, 4 y 5).

Estos resultados, en general, concuerdan con los alcanzados con las demás experiencias, si bien el notar algunas diferencias, sobre todo con los preparados de Fentia - zao ácido, nos conducen a considerar el valor justo de es-

tos estudios, cual es el de servir como orientativos de la compatibilidad o no entre fármaco y excipiente.

Es decir, nos hemos visto obligados a su realización previa con objeto de clasificar a los vehículos en cuanto a la capacidad, que demuestran, de ceder al medio los principios activos interpuestos en su seno.

Los ensayos de difusión medicamentosa con interposición de membrana biológica en nuestro caso se han aproximado, en gran medida, a los procesos de transferencia cutánea. La naturaleza en sí de la membrana y la metodología seguida han determinado este acercamiento por concurrir en estos estudios una serie de factores estrechamente relacionados con las condiciones fisiológicas.

La fase receptora la mantuvimos bajo agitación continua, con lo que evitamos la saturación del producto difundido a nivel de membrana y soalayamos así los posibles errores a la hora de establecer los aspectos cinéticos de la difusión.

Por otro lado, la elección de una solución salina como fase receptora se hizo porque, con el empleo de la piel porcina liofilizada se alcanzaban con bastante aproximación las características y propiedades de una piel fresca; el compartimiento dérmico o receptor, por su parte, de

bía también acercarse a las características de los fluidos tisulares de las capas profundas de la piel, donde tienen lugar los procesos de absorción.

La temperatura y duración del ensayo estuvo en función de unas condiciones fisiológicas de aplicación y de la pauta posológica emanada de la actividad farmacológica del principio activo.

El método que seguimos en estos ensayos constituyó, pues, un medio simple y cómodo para los estudios de la cinética de liberación de los dos principios activos, Fentiazac ácido y Monosalicilato de etilenglicol, a partir de las diferentes bases dermatológicas formuladas al efecto.

Hemos demostrado en nuestras experiencias que los dos principios activos difunden, detectándose su presencia en el medio receptor a partir de los tres excipientes, si bien demostraron ser diferentes ( $P < 0.01$ ) en cuanto a la capacidad de cesión medicamentosa (véase Fig. 8 y 11).

Además hemos comprobado en todos los casos estudiados, que la liberación de las sustancias activas ha tenido lugar con arreglo a los estudios cinéticos teórico-matemáticos (Fig. 7 y 10). Asimismo, hemos establecido los porcentajes de dosis cedidos por los diferentes vehículos para cada principio activo (Tablas 9, 10, 11, 20, 21, 22) a-

la vez que las velocidades de liberación que determinó cada excipiente.

Todo esto nos ha permitido establecer una ordenación entre los vehículos referente a su mayor o menor facilidad de liberación de las sustancias medicamentosas:

Monosalicilato de Etilenglicol	Fentiazac ácido
- Gel acuoso	- Gel acuoso
- Emulsión O/A	- Excipiente anhidro
- Excipiente anhidro	- Emulsión O/A

La interacción fármaco excipiente ha sido también estudiada mediante la influencia de la propia sustancia activa en los fenómenos de difusión (Tabla 30, Fig. 12). Hemos comprobado que en todos los casos (pomadas de Fentiazac ácido y Monosalicilato) existen diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre las cantidades detectadas de uno y otro principio activo, con independencia del tiempo de lectura.

A través de los estudios biofarmacéuticos, basados en las curvas acumulativas de excreción urinaria, hemos conseguido establecer, para cada principio activo y dependiendo del vehículo, los valores de excreción urinaria máxima y la constante de eliminación urinaria (Tablas 40, 41, 42, 49, 50 y 51), parámetros característicos de cada una de las formas de dosificación. Al mismo tiempo hemos determinado con estos valores las ecuaciones generales del pro-

cese y, por ellas, las cantidades de fármaco excretado en cada instante (Tabla 43 y 52).

Por otro lado, a partir de los porcentajes de dosis excretados, tanto de Fentiazac ácido como de M.S.E.G., en función del tiempo (Fig. 14, 15, 16 y 21, 22, 23) determinamos, de nuevo, la capacidad de transferencia de ambos fármacos según la formulación, y por los valores de " $k_e$ ", la velocidad con la que desaparecen del organismo animal.

De igual modo hemos demostrado, que el proceso de excreción urinaria, tanto para el Fentiazac como para el M.S.E.G., con independencia de la formulación, sigue un proceso de primer orden (Fig. 17, 18, 19 y 24, 25, 26).

Sin embargo, el interés mayor derivado de estos estudios "in vivo" estriba en el gran paralelismo, en aspectos cualitativos, entre los resultados extraídos de éstos y los conseguidos por procedimientos "in vitro", en cuanto a la capacidad de liberación medicamentosa de los excipientes se refiere. De lo cual se deduce que los ensayos de difusión "in vitro" sean particularmente útiles cuando se trate de comparar velocidades de cesión de un mismo fármaco a partir de diferentes vehículos.

La extensibilidad, como característica de los preparados semisólidos de aplicación tópica, guarda una correla

ción lineal y positiva ( $P < 0.05$ ) cuando ambas variables -  
toman expresión logarítmica (Tabla 65).

Igualmente, hemos encontrado diferencias significa-  
tivas ( $P < 0.01$ ) entre la extensibilidad de los preparados  
de Fentiazac ácido y M.S.E.G. y sus respectivos vehiculos,  
con independencia del estado físico de los fármacos y del-  
sistema que determine la interposición (Tablas 63 y 64), -  
así como entre las pomadas de ambos fármacos formulados en  
excipientes homólogos (Tabla 62. Fig. 30 y 31).

Los estudios de extensibilidad han permitido diluci-  
dar, mediante las pruebas estadísticas correspondientes, -  
que las pomadas de Fentiazac ácido en gel acuoso y exci- -  
piente anhidro no presentan diferencias (Tabla 58. Fig. 28),  
hecho que concuerda con el comportamiento cinético más o -  
menos análogo, del Fentiazac ácido en preparados de estos-  
excipientes, comprobado por nosotros mediante los datos- -  
cuantitativos de difusión o excreción urinaria.

Por su parte, las pomadas de M.S.E.G. muestran dife-  
rente extensibilidad en todos los casos (Tabla 61, Fig 29),  
circunstancia también relacionada con la diferente biodis-  
ponibilidad del principio activo en función de la formula-  
ción.

Las pomadas de Fentiazac y M.S.E.G. en excipiente -

emulsionado muestran una extensibilidad equivalente, estadísticamente, con los pesos de 100 y 500 gramos mientras que difieren en los restantes (Tabla 62). Esto nos hace considerar que el leve masaje aplicado cuando se ensaya "in vivo", para el buen reparto del preparado sobre la superficie tratada, tiene un fundamento científico, máxime cuando es a partir de los 150 g (equiparables a la presión ejercida) cuando encontramos las diferencias entre ambos preparados, que ya fueron evidenciadas con la distinta bio disponibilidad de los mismos (buena para el Monosalicilato y mínima para el Fentiazac).

La medida de extensibilidad constituye una aproximación al conocimiento de la mayor o menor interacción entre los componentes de una pomada, equiparable a la estabilidad de su sistema. Es en sí misma una apreciación válida en tanto que caracteriza un conjunto de cualidades del preparado. Sin embargo, no define por sí sola la capacidad de transferencia de un medicamento tópico, si bien aclara o confirma los resultados de los estudios de biodisponibilidad, siempre y cuando se realicen de forma conjunta.

## **DISCUSION**

Como preámbulo a las consideraciones y epicrítica - de los resultados obtenidos, dedicaremos unos comentarios - acerca de la validación del método espectrofotométrico ele - gido como técnica de la medida para las cantidades difundi - das de Fentiazac ácido, en los ensayos de liberación con - membrana (144) y de las excretadas por orina en los biofar - macéuticos.

Este método no está descrito en la literatura cien - tífica, lo que justifica el número de determinaciones rea - lizadas, tanto en el D.D. (extinciones de las diluciones - correspondientes a días consecutivos), como en el E.D. (ex - tinciones de las diluciones correspondientes a la repeti - ción individual y aleatoria de una de ellas en un mismo - día). Entendemos que de esta forma el valor obtenido se -

aproxima con gran precisión al real ya que se disminuyen los posibles errores analíticos o de elaboración, imputables al operador o instrumento de medida.

Por el estudio estadístico al que sometimos los resultados obtenidos en el D.D. y E.D. observamos que los intervalos de confianza de la media, en ambos grupos, se superponen de forma notable (Tabla 5, 6 y 32,33), lo cual nos indujo a considerar que las determinaciones espectrofotométricas, al no presentar diferencias significativas, procederían de una población común (159). Es decir, independientemente de la forma o procedimiento de conseguir una solución de Fentiazac ácido, según metodología ajustada a procedimientos "in vitro" o "in vivo", éstas siempre presentaron la misma extinción frente a una concentración dada.

Para corroborar este hecho, sobre los resultados extraídos, se aplicó la prueba de comparación de las dos medias a partir de la variación del error experimental ( $S^2$ ) en el D.D. y E.D., que nos condujo a unos factores experimentales,  $t_8$  y  $t_{18}$  (en la validación previa a los estudios "in vitro" e "in vivo" respectivamente), inferiores al parámetro "t" de FISHER (Tablas 7 y 34), que nos vino a confirmar que entre los grupos en estudio no existían diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

En la realización de este tratamiento teníamos la -

sospecha fundada sobre la validez de la técnica que proponemos; sin embargo, en la precisión del método podían influir el modo de extraer las muestras o bien la propia naturaleza de éstas, de tal manera que las lecturas de extinción se desviaran de las teóricas. Por lo tanto, procedimos al cálculo y representación de la ecuación teórica de la recta de calibración típica a partir de los valores de concentración/extinción (Tabla 8, 35 y Fig. 6, 13).

Observamos como ambas variables presentaban una correlación lineal y positiva:  $r = 0.997$  ( $n=14$ ) y  $r = 0.999$  ( $n=6$ ), de tal forma que los valores corregidos obtenidos no diferían significativamente de los observados. De esta manera quedaba probado que las soluciones de Fentiazac éol do mantenían una relación directa entre concentración del producto y extinción obtenida.

El desarrollo de nuestras experiencias se ha llevado a cabo en base a unos preparados tópicos, semisólidos, obtenidos unas veces por solución y otras por dispersión de los principios activos en su seno, si bien la concentración de éstos fue constante (5% P/P) al mostrar los preparados con ella una estabilidad satisfactoria.

La concentración y solubilidad de las sustancias medicamentosas en sus respectivos vehículos tienen gran importancia, pues ambos inciden directamente en la actividad —

termodinámica de la sustancia activa en el excipiente y ésta, a su vez, en la mayor o menor intensidad de absorción del fármaco (46,58).

Por regla general la absorción percutánea de los fármacos está limitada por la impermeabilidad de la piel, de aquí que hayamos perseguido que la sustancia activa esté contenida, en los preparados formulados, en las condiciones más favorables de actividad termodinámica.

A la luz de los resultados alcanzados en los ensayos de liberación medicamentosa en soporte sólido, observamos como los parámetros tiempo y temperatura favorecen el proceso, pues en todos los casos la liberación es creciente a medida que se incrementan ambos factores dentro de las condiciones experimentales fijadas.

Por otro lado estos resultados nos aseguran la no existencia de incapacidad en los vehículos para liberar las sustancias activas, si bien ello está sujeto a un comportamiento diferente entre los excipientes frente a un mismo fármaco y viceversa.

Tras un análisis pormenorizado y para cada principio activo podemos decir:

El Fentiazac ácido (Tabla 2, Fig 3) presenta la mayor difusión cuando se incorpora al excipiente anhidro-hidrosoluble (PEG) en igualdad de condiciones (tiempo y temperatura), respecto a los otros vehículos. Parece que la mezcla de PEG 400 y 4000 en la proporción aproximada 2.5:1 repercute favorablemente en los índices de difusión, pues según BELMONTE, principios activos como la Benzocaína difunden con mayor o menor rapidez dependiendo de que el PEG sea de alto o bajo Pm (160).

La liberación que presentó el principio activo a partir de la emulsión O/A y gel acuoso, en líneas generales, no fue muy distinta. Las diferencias, cuando las hubo se presentaron en función de la temperatura y el tiempo. Efectivamente, si a temperatura baja (4 °C) el Fentiazac difundió menos a partir del gel acuoso, a temperatura media y alta (18 y 40 °C) la capacidad de cesión de este excipiente superó a la del emulsionado en el período de 6-24 horas.

El Monosalicilato de Etilenglicol (M.S.E.G.) por su parte, mostró (Tabla 3, Fig 4) siempre mayor difusión a partir del gel acuoso. Respecto a los otros excipientes, el emulsionado liberó con mayor facilidad el principio activo que el anhidro-hidrosoluble, si bien las diferencias entre ambos preparados no fueron tan manifiestas respecto a las observadas entre éstos y el correspondiente en gel -

acuoso.

Del estudio comparativo de difusión de uno y otro fármaco se desprende que el M.S.E.G. respecto al Fentiazac, presenta mayor liberación en función del gel acuoso y emulsión O/A. En cambio, cuando analizamos los resultados para el excipiente anhidro, el Fentiazac presenta mayor liberación en todos los tiempos a temperatura media y baja, que superada en la alta (40 °C) por el M.S.E.G. a partir de  $t = 18$  h.

La explicación a este hecho la encontramos, como indican STOLAR y cols. y LOVEDAY (161, 162), en los enlaces de hidrógeno (se encuentran entre el oxígeno etérico presente en las moléculas del excipiente y el oxidrilo fenólico de los compuestos salicilados), que determinan la escasa liberación del Monosalicilato.

Estos complejos son reversibles, por ello la temperatura de 40 °C y el tiempo 18 h son los determinantes de su ruptura y que la difusión de este principio activo se asemeje, bajo estas condiciones, a la del Fentiazac ácido.

Estos estudios de liberación, basados en los aspectos cualitativos de mayor o menor difusión, nos han servido de orientación sobre la influencia de distintas bases dermatológicas en la cesión de los principios activos. Sin

embargo, al estimar, con otros autores (163) que las diferencias observadas son escasas, hemos completado nuestras investigaciones "in vitro" con estudios de difusión a través de membranas.

La célula de difusión sobre la que se realizaron -- las experiencias tuvo, en su diseño simple, todos los aditamentos precisos para aproximar las condiciones experimentales a las que concurren en una piel viva. En ella cabe señalar como más relevante, a pesar de su aún poco extendido uso, a la membrana biológica utilizada al efecto como -- de difusión. Se trata de una piel natural, porcina y liofilizada, que por conservar las capas cutáneas en un mínimo espesor --0.02 cm-- nos ha sido muy útil en nuestro diseño -- experimental.

Una importante característica que presenta esta piel es la de poseer una larga vida media de actividad --2 años-- merced a los tratamientos físicos a que es sometida, irradiación y liofilización, de tal manera que se disminuyen -- enormemente los peligros que acechan a una piel fresca, -- animal o humana, a la hora de practicar ensayos de este tipo, pues es sabido que la permeabilidad cutánea puede verse aumentada por la acción de aislar el tejido cutáneo del resto del organismo (81, 85).

Por otro lado, esta membrana proporcionará unos va-

lores de difusión que orientan acerca de lo que pudiera -  
ocurrir "in vivo" con más aproximación que cualquier otra-  
membrana artificial.

A través de los resultados analíticos hemos compro-  
bado que ambos principios activos (Fentiazac ácido y Mono-  
salicilato de Etilenglicol) difunden y, por tanto, se de-  
tecta su presencia en el medio receptor a partir de cual -  
quier excipiente. No obstante, existen entre ellos diferen-  
cias respecto a la capacidad de cesión, así como entre las  
cantidades liberadas de uno y otro fármaco formulados en -  
excipientes homólogos.

El Fentiazac ácido (Tablas 9, 10 y 11) siempre di -  
fundió menos a partir del excipiente emulsionado (4.45 % -  
de la dosis inicial al término de la experiencia). En el -  
gel acuoso el fármaco presentó el mayor porcentaje de do -  
sis liberada dentro del período final de la experiencia - -  
(38.48 %). Sin embargo, debemos hacer notar el retardo - -  
apreciado en la cesión del principio activo con este exci-  
piente (alrededor de 20 min) (Fig. 7) que determinó porcen-  
tajes liberados en los períodos inicial y medio (13.97 % y  
26.5 % respectivamente) inferiores a los mostrados en igua-  
les períodos por el excipiente anhidro-hidrosoluble (23.43  
y 29.15 %) si bien a tiempo final proporcionó un porcenta-  
je cercano, aunque inferior, al del gel acuoso (34.37 %).

Estos resultados concuerdan, en cierta medida, con los obtenidos tras la liberación en soporte sólido (Fig 3) donde también se manifestó el período de latencia del preparado en gel acuoso, pues sólo superó en capacidad de cesión al correspondiente en excipiente emulsionado, a temperatura media y alta y a partir de  $t = 6$  h.

Las concentraciones de Fentiazac ácido, determinadas tras la cesión de este principio a partir de los distintos preparados, han sido diferentes con independencia del tiempo de lectura. Estos niveles, en el conjunto de las tres pomadas (Tablas 15, 16 y 17; Fig. 8) o por comparación individual entre pares de valores (Tabla 18) han determinado la existencia de diferencias significativas ( $P < 0.01$ ), lo que viene a representar que los tres excipientes no son equivalentes en cuanto a la capacidad de ceder al Fentiazac ácido.

Por su parte, la cinética de liberación de este fármaco a partir de las diferentes fórmulas concuerda, en todos los casos, con los estudios realizados por HIGUCHI (43), por cuyos modelos de expresión matemática (consúltese Parte General, pág.50 y sig. ecuaciones 5 y 7) la cantidad de sustancia transferida a la superficie de la piel es una función directa de  $\sqrt{t}$ , si bien ésta es diferente según que el principio activo se encuentre solubilizado (43, 164) o en suspensión (29, 43, 84).

Con la representación gráfica de las concentraciones medias del fármaco ( $C_m$ ) respecto de  $\sqrt{t}$ , hemos obtenido las correspondientes curvas de cesión en las que los pares de valores presentan una elevada correlación lineal -- ( $P < 0.001$ ) (Tablas 12, 13, 14 y Fig. 7). Así pues, queda comprobado que en todos los preparados de Fentiazac se cumple la función:  $C_m = f \sqrt{t}$ .

El valor de la pendiente de estas curvas, según -- DOELKER y BURI (165), es representativa de la velocidad de liberación y ésta, a su vez, de la de transferencia del fármaco hacia las estructuras cutáneas. Esta consideración nos indica de nuevo, esta vez bajo aspectos cinéticos, cómo influye el vehículo en la cesión medicamentosa, ya que la emulsión O/A presenta la menor velocidad de liberación del Fentiazac ácido (0.19 unidades de pendiente); a partir del gel acuoso la mayor (valor de la pendiente: 2.34), mientras que desde el excipiente anhidro muestra un valor intermedio (1.16 unidades).

Para nosotros, la explicación a estos valores la encontramos en la forma en que se interpuso el Fentiazac ácido en los excipientes. En el gel acuoso y excipiente anhidro quedó solubilizado, lo cual ha determinado los valores más elevados de velocidad y porcentaje de dosis cedido, por encontrar el fármaco en estas condiciones menos dificultad en la difusión a través de tales vehículos. Sin embargo, --

Al quedar dispersado en una de las fases del excipiente — emulsión encontramos los valores más bajos de los factores antes señalados, debido a que el tránsito del Fentiazac en este excipiente será más lento.

El Monosalicilato de Etilenglicol se libera y, portanto, difunde a través de la membrana desde cualquiera de sus preparados (Tablas 20, 21 y 22) aunque no todos se comportan de igual modo. Así, el formulado en el excipiente — anhidro—hidrosoluble presenta, a lo largo de toda la experiencia, el menor porcentaje de cesión (28.45 % para  $t=180$  min.), seguido por el preparado en emulsión O/A (84.29 % al final de la experiencia), mientras que los superiores lo muestra el correspondiente al gel acuoso (98.44 % en las mismas condiciones).

Al mismo tiempo, basándonos en las concentraciones liberadas a lo largo del tiempo por cada una de las pomas de Monosalicilato, hemos comprobado estadísticamente — la no equivalencia de los excipientes en cuanto al fenómeno estudiado, puesto que las medias observadas en los períodos inicial, medio y final del proceso difieren en su conjunto (Tablas 26, 27, 28 y Fig. 11), a la vez que tras la comparación individual entre pares de grupos (Tabla 29) a excepción de los preparados en gel acuoso y excipiente — emulsionado a  $t=120$  min. que son equivalentes estadísticamente en lo concerniente a cesión de fármaco.

En cuanto a la cinética de liberación de este principio activo (Tablas 23, 24 y 25), la velocidad de liberación más baja la mostró el preparado en excipiente anhidro (0.76 de pendiente), mientras que los otros dos, en gel acuoso y emulsionado, el Monosalicilato muestra valores análogos: 3.31 y 3.91 unidades de pendiente respectivamente.

Al representar las concentraciones medias del principio activo (en función del excipiente) respecto a  $\sqrt{t}$ , hemos comprobado cómo los pares de valores siempre presentan una elevada correlación ( $P < 0.001$ ) (Fig. 10) con lo que corroboramos, al igual que en el caso del Fentiazac ácido, los estudios teóricos emitidos al respecto (43).

En los preparados de Monosalicilato, la interposición de éste fue diferente, solubilizada en gel acuoso y excipiente anhidro y emulsionada en la base O/A, aún estando solubilizado en una de sus fases.

La distinta equivalencia de difusión observada entre el gel acuoso y emulsión O/A, también detectada para fármacos como Ibuprofen y Ketoprofen (93), radicaré en la propia solubilización del Monosalicilato, en el excipiente gel acuoso, y porque el pH de la fórmula 6.8 incide favorablemente sobre su liberación al mantener al fármaco en su forma no ionizada, que a su vez es la que penetra más fácilmente (46).

Por su parte la interposición del principio activo en el excipiente emulsionado muestra porcentajes liberados menores que con gel acuoso, ya que el Monosalicilato tendrá en este excipiente una actividad termodinámica disminuida y por tanto mayor dificultad para difundir a través del vehículo, por hallarse emulsionado y no enteramente solubilizado.

Por último, los niveles de Monosalicilato en el medio receptor fueron en todo tiempo mínimos cuando se incorpora al excipiente anhidro, pese a encontrarse solubilizado en este vehículo. Esto está motivado por un coeficiente de reparto favorable al excipiente, tras el establecimiento de enlaces químicos entre fármaco-excipientes (161,162)- que se traduciría en los datos analíticos obtenidos.

Hemos demostrado en estos estudios como el Fentiazac ácido difunde a mayor velocidad y se recogen los mayores porcentajes de dosis a partir del gel acuoso al que siguen excipiente anhidro y, por último, emulsión O/A. Por su parte los porcentajes de difusión de M.S.E.G. han sido mayores cuando se formula, al igual que el Fentiazac ácido, en gel acuoso, cercanos a éstos aunque inferiores a partir de emulsión O/A y los mínimos los hemos obtenido en las pastillas en base de polietilenglicoles.

Por todo esto, hemos realizado una comparación entre las cantidades liberadas de ambos fármacos cuando se formulan en una misma base dermatológica, con el fin de analizar la dependencia fármaco-excipientes, esta vez debida al principio activo.

Las determinaciones cuantitativas nos indican que las correspondientes a Monosalicilato superan a la del Fentiazac en los preparados en gel acuoso y emulsionado y son inferiores en los preparados de excipientes anhidro.

Con objeto de comprobar la significación de estas diferencias, establecimos la prueba "t" de FISHER sobre los valores de difusión de ambos fármacos a partir de excipientes homólogos (Tabla 30, Fig. 12) obteniendo para todos los grupos en estudio la existencia de diferencias ( $P < 0.01$ ) entre las cantidades detectadas con independencia del tiempo de lectura.

Los ensayos biofarmacéuticos se han centrado en el estudio sistemático de las curvas acumulativas de excreción urinaria que, a su vez, reflejan la cantidad total de fármaco excretada a través del tiempo (166).

El Fentiazac ácido se metaboliza fundamentalmente en el derivado 2-p-hidroxilado correspondiente, que se ex-

creta, entre otras vías, por orina. Sobre este compuesto - se han realizado investigaciones (síntesis, propiedades físicoquímicas, extracción, identificación, etc.) (136), encaminadas a conseguir un producto con proyección terapéutica; sin embargo, al no disponer del producto, no hemos podido validar la técnica espectrofotométrica para su determinación urinaria. Por esta razón el estudio biofarmacéutico del Fentiazac ácido lo hemos basado en la detección espectrofotométrica de las fracciones inmodificadas, no biotransformadas, y los resultados obtenidos quedarán referidos a ellas (Tablas 36, 37, 38). Estos determinan un porcentaje de dosis excretada (U) a 33 h diferente para cada una de las pomadas. La capacidad de cesión de los excipientes gel acuoso y excipiente anhidro fue muy próxima (5.6 y 6 % respectivamente), mientras que la mostrada por el emulsionado fue inferior (4.25 %).

Con la representación de las dosis excretadas en función del tiempo hemos obtenido las curvas acumulativas correspondientes a cada uno de los preparados (Fig. 14, 15 y 16), a partir de las cuales calculamos de forma gráfica los valores experimentales de excreción urinaria a tiempo infinito. Por otro lado, determinemos las cantidades remanentes del fármaco en un compartimiento dado (Tabla 39) y por ellas el trazado de las respectivas curvas de los residuales (Fig. 14, 15 y 16). Estas, típicas exponenciales, se rectifican cuando las cantidades por excretar se transforman en logaritmos decimales (Fig. 17, 18 y 19).

Entre los puntos representados existió siempre una elevada correlación ( $P < 0.001$ ; Tablas 40, 41 y 42) y demostramos con ello que la desaparición del Fentiazac por excreción urinaria (valor negativo de "r") es un proceso de primer orden con independencia de la formulación.

Las ecuaciones teóricas de las rectas de regresión nos han conducido a los valores corregidos de "excreción urinaria máxima  $U_{\infty}$ " (fracción o porcentaje absorbido que se excreta inalterado por orina en un tiempo infinito). Este valor es constante para cada principio activo en una forma de dosificación y, además, depende de la formulación ya que dentro de las pomadas de Fentiazac ácido nosotros hemos obtenido un valor distinto según el excipiente (Tablas 40, 41 y 42). Así, el preparado en gel acuoso mostró valores de  $U_{\infty}$  de 6.71, de 6.29 % en el excipiente anhidro y de 4.03 % para el correspondiente al excipiente emulsionado.

Estos parámetros, junto con los porcentajes de dosis excretados justifican la existencia de la dependencia vehículo-principio activo en la biodisponibilidad del Fentiazac ácido.

Al mismo tiempo hemos determinado el valor de " $k_u$ ", constante de eliminación urinaria que, al igual que  $U_{\infty}$  es una característica del fármaco dependiente de la formulación.

Gracias a éste termino nos ha sido posible establecer, para cada una de las curvas de excreción, una ecuación general (Tabla 43) que determine la cantidad de dosis excretada ( $U$ ) o por excretar ( $U_{\infty} - U$ ) en cualquier instante, a partir de cada una de las pomadas ensayadas.

Por otro lado, al poseer habitualmente " $k_u$ " el mismo valor que la constante de eliminación del plasma, " $k$ ", regirá el proceso de excreción. En base a esta premisa, los valores de " $k_u$ " nos expresan que la eliminación del fármaco, tras su administración tópica es lenta, circunstancia concordante con la también lenta absorción de ésta vía, de terminada en gran parte, por la existencia de la "barrera" epidérmica opositora al paso de la mayoría de sustancias - (1, 13).

Sin embargo, existen diferencias, aunque mínimas, en la cinética de liberación dependiendo del excipiente en que se interpone el fármaco. Así, si del preparado en excipiente anhidro desaparece cada hora del organismo un 10.85 por ciento de la cantidad existente la hora precedente - - ( $k_u = 0.1149 \text{ h}^{-1}$ ), el formulado en gel acuoso consigue un 10.60 % ( $k_u = 0.1121 \text{ h}^{-1}$ ) mientras que desde el correspondiente en emulsión O/A desaparece un 9.91 % ( $k_u = 0.1044 \text{ h}^{-1}$ ) en iguales condiciones.

Por tanto, la equivalencia demostrada en la interec

ción fármaco-excipiente entre los preparados de Fentiazac-ácido la encontramos más por las características propias - de la especificidad entre los componentes de cada una de - las fórmulas que por la cinética propia del fármaco que te terminan mayor cantidad excretada en función del tiempo- - (Tabla 43) a partir del gel acuoso (mayor valor encontra - do para  $U_{\infty}$ ) seguido muy de cerca por el preparado en exci piente anhidro y por último, la pomada en excipiente emul- sionado.

Esta secuencia, e incluso la similitud en los resul tados extraídos de los preparados en gel y excipiente anhi dro, vuelve a repetirse de forma análoga a lo ocurrido en- sayos precedentes de difusión "in vitro" (pág.131 y sig).

Demostremos, pues, con estos resultados lo ya emiti do por OSTRENGA y cols. (167) en cuanto a que las caracte- rísticas del excipiente inducen a una mayor difusión máxi- ma de la sustancia activa cuando ésta está en solución. Ade más, si consideramos la epidermis como una membrana con es tructuras hidrófobas, el transporte de sustancias activas- a través de ella eumentará a medida que tenga un coeficien te de reparto favorable para el estrato córneo (68, 168), - hecho que ya fuera demostrado por TREHERNE (41) cuando re- laciona los valores de este parámetro con la transferencia de varias sustancias activas.

Un coeficiente de reparto favorable a la fase lipídica para el Fentiazac ácido, indica una solubilidad baja en soluciones acuosas. Dado que este principio es muy insoluble en agua, esto determina que se encuentra en condiciones óptimas de liberación cuando se formule en gel acuoso, ya que su distribución en el preparado no está en exceso - desplazada hacia el excipiente por haberse mantenido el nivel mínimo de disolvente. Además el pH del vehículo (6.8) - conlleva a una actividad termodinámica del fármaco, por mantenerlo en su forma molecular que a su vez coincide con la que penetra con mayor facilidad (46).

En el preparado en base de polietilenglicoles, en la que actúa como agente solubilizante el PEG-400 cabe pensar, según estas premisas, en una similitud de resultados, capacidad de transferencia, con el preparado en gel acuoso, circunstancia que concuerda con los datos extraídos en estos ensayos biofarmacéuticos. No obstante, en los ensayos "in vitro" encontramos una significación entre los niveles alcanzados con uno y otro vehículo, debido en parte al efecto deshidratante del excipiente anhidro (169) que suscita un movimiento del agua presente en las estructuras cutáneas, negativo en los procesos de transferencia, aunque no en los de absorción.

Por su parte, el preparado en emulsión O/A muestra los porcentajes liberados más bajos, como ocurre también -

con otros compuestos en condiciones análogas de formulación (170). Es decir, el fármaco al estar en suspensión dentro del excipiente, han sido precisos dos pasos para poder difundir: disolución en la emulsión y cesión desde ella. En este caso el Fentiazac ácido posee una actividad-termodinámica baja, respecto a los otros vehículos, bien por la escasa difusión del principio activo en este excipiente (171), o bien al estar el grado de absorción igualmente ligado al coeficiente de reparto, en cuanto que lo esté con la solubilidad relativa de las sustancias activas hacia el vehículo o estructuras epidérmicas (67), el mecanismo de transferencia se complica por la presencia de una capa continua en contacto con la piel (a cuyo nivel se efectuarán los intercambios con la capa córnea) y una fase dispersada que dificulta la cesión del fármaco a través del tegumento (172).

En consecuencia, la mayor biodisponibilidad la alcanzamos cuando el Fentiazac ácido va disuelto en el vehículo, lo que coincide con lo descrito por otros autores (32, 67, 167, 173), pues dentro de los factores fisicoquímicos relacionados con la liberación del producto por parte del preparado, es la concentración del fármaco en solución, en condiciones próximas a la saturación, el más importante, ya que sólo cuando ha permanecido en esta forma tiene un gradiente favorable que le permite difundir fuera del vehículo.

La valoración colorimétrica del Monosalicilato de - Etilenglicol excretado en orina (referida en este caso a - fármaco inmodificado y metabolitos conjuntamente), muestra valores diferentes de excreción en función de la formula - ción (Tablas 45, 46, 47 y 48).

Los valores más elevados en dosis liberada a  $t = 33$  horas, los encontramos en el preparado de gel acuoso (33.73 por ciento) al que sigue el de emulsión O/A (26.67 %) y ex - cipiente anhidro (20.86 %).

En base a estos resultados hemos construido, al - - igual que para el Fentiazac ácido, las curvas de excreción acumulativas y las de los residuales representativas de ca - da uno de los preparados (Fig. 21, 22, 23). Asimismo hemos - calculado las ecuaciones teóricas de las rectas de regre - sión de la relación  $\log U_{\infty} - U / t$  (Tablas 49, 50, 51 y - Fig. 24, 25, 26). En todos los casos la relación entre - - ambas variables ha sido elevada ( $P < 0.001$ ), por lo que - demostramos que la desaparición del M.S.E.G. por excreción urinaria (valor negativo de "r") sigue un proceso de pri - mer orden.

Al mismo tiempo las ecuaciones teóricas de los resi - duales nos han llevado a unos valores corregidos del pará - metro  $U_{\infty}$ , constante del M.S.E.G. sujeta a la formulación (preparado en gel: 40.62 %, en excipiente anhidro: 24.95 % y en emulsión O/A: 34.85 %) y que expresa, en cada caso, -

la excreción máxima urinaria de ión salicílico total. Además hemos determinado los valores de " $k_u$ " y por ellos, las ecuaciones generales del proceso (Tabla 51), así como la cinética por la que transcurre la excreción del M.S.E.G. a partir de los diferentes preparados. Estos valores demuestran que la emulsión O/A presenta la cinética de liberación más favorable: 14.65 % de la cantidad remanente ( $k_u=0.1584 \text{ h}^{-1}$ ), un 10.77 % el excipiente anhidro ( $k_u=0.1139 \text{ h}^{-1}$ ) y la menor el gel acuoso: 7.18 % ( $k_u=0.0745 \text{ h}^{-1}$ ).

En definitiva, encontramos gran semejanza entre el comportamiento de los vehículos en este estudio y en el precedente de difusión con intermedio de membrana, ya que en general en uno y otro los porcentajes y velocidad de liberación están referidos a un mismo orden de excipientes - (consúltese pág.140 y sig.).

Sin embargo, al intervenir en los ensayos "in vivo" factores más complejos y variados que "in vitro" -físico - químicos y biológicos- con gran influencia sobre los procesos de transferencia y absorción percutáneas, pensamos que las interacciones fármaco-excipiente o fármaco-estructuras cutáneas son las responsables de los resultados obtenidos.

En la pomada de M.S.E.G., en gel acuoso, concurren varias circunstancias que determinan la mayor biodisponibilidad del preparado. Una de ellas es la ya mencionada in-

terposición por disolución etanólica; Algunos principios esteroideos presentan absorción óptima en condiciones semejantes (174). Además hay que tener en cuenta la adición de un humectante -glicerina- que evita la pérdida acuosa por evaporación, en la fórmula. Debido a ello se favorece la hidratación del estrato córneo, factor que influye asimismo en los procesos de penetración cutánea (52). Al mismo tiempo la glicerina actúa como estabilizador de sustancias activas (175), que unido al pH del excipiente (6.8) conducen al grado óptimo de biodisponibilidad que hemos encontrado, al igual que otros autores (76), para el preparado en gel acuoso.

El Monosalicilato, en el excipiente emulsionado, se interpuso solubilizado en su fase interna, por lo que sus índices de excreción son aceptables (61); sin embargo difieren respecto a los obtenidos a partir del formulado en gel, debido al sistema fisicoquímico de la pomada y por la propia naturaleza del disolvente (alcohol de 96% en el gel y vaselina en la emulsión O/A) pues dependiendo de éste se forman sistemas cuya homogeneidad, macro y microscópica, repercute en los índices de cesión (47, 76, 176, 177, 178). Con todo, el hecho de estar interpuesto de esta forma hace que el principio activo se ceda sin dificultad al medio como hemos demostrado con nuestros resultados y que a su vez concuerdan con las disquisiciones hechas al respecto por OSTRENGA y cols. (167, 179).

Un componente importante de este vehículo (formulado a partir de SEDEFOS<sup>R</sup>-75), es el agente emulsivo, de gran significación en los procesos de absorción percutánea como preconizaran Mac KEE y cols. (180) y demostraran, entre otros, autores como TABER y BLACK en sus estudios sobre la penetración de antibacterianos o desinfectantes (181, 182). En nuestro caso, al tratarse de un fosfato de alcoholes grasos posee características de anión activo con intensidad similar a los tensioactivos alquilsulfatos alcalinos, ya que los porcentajes de eliminación alcanzados con nuestro preparado son muy similares a los obtenidos por otros autores a partir de fórmulas de M.S.E.G. con tensioactivos de ese tipo (183, 184). Estas puntualizaciones explican la acción favorecedora del emulgente, por nosotros empleado, en la cesión del M.S.E.G. al igual que los ésteres nicotínicos (185), a partir de bases emulsionadas.

Sin embargo no hemos observado irritación cutánea en la superficie tratada, tras la aplicación de nuestro preparado, como sucede con los tensioactivos alquilsulfato (186, 187, 188, 189).

Por otro lado, la capacidad de cesión de nuestro preparado en base O/A es superada por el correspondiente en gel acuoso, lo que tampoco concuerda con el poder que tienen tensioactivos como el laurilsulfato sódico, de modificar la permeabilidad de la epidermis (por provocar cambios morfológicos en sus membranas) (190, 191), pues en

nuestro caso se hubieran rebasado ampliamente los niveles de difusión y excreción del preparado en gel acuoso.

El excipiente anhidro, por su parte, ha mostrado para el M.S.E.G. la velocidad de liberación más baja, así como los menores porcentajes de dosis excretados. Estos resultados constituyen una constante en el comportamiento de este vehículo a lo largo de todos los estudios que hemos planteado.

El principio activo se interpuso en el preparado bajo su forma solubilizada en PEG-400, lo que desencadena la formación de complejos, a los que ya hemos hecho mención, que comportan una baja actividad termodinámica del fármaco en este excipiente (43, 161, 162, 175). Es decir, el principio activo en estas condiciones tiene un coeficiente de reparto más desplazado hacia el vehículo que a la capa córnea. ZECCHI y cols., por esta razón, encuentran la máxima interacción con preparados de ácido salicílico en mezclas de PEG (192).

La disminución en la biodisponibilidad de los fármacos, por causa de excipientes a base de polietilenglicoles no queda referida sólo a los derivados salicilados, ya que compuestos esteroideos como el Fluocinónido (178) o vitamínicos, vit. B<sub>2</sub>, C, PP, (193) presentan escasa penetración cutánea en estos vehículos o cuando actúan como disolven -

tes del principio activo.

No obstante la formación de estos complejos tiene - que depender de la proporción del PEG en la fórmula, como explicación válida a los resultados obtenidos, que en todo caso conllevan a una menor, y no nula, capacidad de penetración y absorción del fármaco.

Por tanto, en el grado de penetración de una molécula, sustancia activa, interviene de forma decisiva la elección del vehículo más apropiado que pueda modular su bio - disponibilidad hasta conseguir la más idónea.

En este estudio biofarmacéutico basado en la excreción urinaria de Fentiazac ácido y M.S.E.G., hemos encontrado gran diferencia entre las cantidades liberadas de - uno y otro principio activo y, aún no pudiendo establecer una comparación satisfactoria entre ambas, pues las fracciones de cada uno de ellos es distinta (Fentiazac sólo la inmodificada, Monosalicilato inmodificada más biotransformada) debe concluirse que son debidas a las propias características de cada molécula.

En estudios sobre la absorción percutánea de Fentiazac realizados con metodología analítica distinta, si bien sobre los mismos animales (125), se llega a que la fracción metabolizada de éste es próxima a la del fármaco. Sin embar

go, pese a todo, se mantiene la distancia entre los porcentajes excretados cuando lo son a partir de excipientes homólogos.

Las dos sustancias presentan más liposolubilidad, - por lo que cabría pensar en un compartimiento paralelo, ya que la constante de difusión del fármaco, en el estrato - - córneo, disminuye cuando aumenta la polaridad de la molécula (58).

No obstante, estos dos fármacos difieren en su  $P_m$ , - menor el del Monosalicilato (182.17) frente al del Fentiazac ácido (329.8). Por esta razón el primero es el que difunde en mayor proporción y más rápidamente y que, por tanto, sea preferentemente mejor absorbido (57). A su vez, el coeficiente de reparto en favor de los lípidos se incrementa a medida que aumenta el  $P_m$  (32) lo que redundaría - igualmente en los bajos índices de absorción obtenidos para el Fentiazac ácido.

Todo esto, unido a la capacidad de modificación de la permeabilidad celular, ligada al ión salicílico y sus derivados (194, 195), explican los mayores niveles alcanzados para el Monosalicilato de Etilenglicol en cuanto a la biodisponibilidad se refiere.

A pesar de que las cantidades de ambos fármacos en la orina son muy bajas respecto a las extraídas "in vitro"

y ello impide realizar una comparación cuantitativa "in vitro" - "in vivo", supone una aportación el elevado paralelismo, cualitativo, en cuanto a la capacidad de cesión demostrada por los excipientes en uno y otro caso. Debido a que la precisión con la que se puede, de una parte, distinguir la liberación de los dos principios activos a partir de un mismo excipiente y del mismo fármaco contenido en diferentes vehículos y, de otra parte, al estudiar la cinética de esta liberación, demuestran la bondad del método y - de las técnicas empleados por nosotros.

Los ensayos de extensibilidad revelan cuestiones de interés como lo son, la estructura particular de las formas farmacéuticas semisólidas, con frecuencia utilizadas - en el campo dermatológico, y otra el tiempo de reposo en - el que deben permanecer las fórmulas antes de su uso, ya - que durante este período (48 h) los preparados adquieren - su conestectura definitiva (196).

La justificación de este estudio reológico se cen - tra en la conveniencia de esta característica, extensibilidad del preparado, máxime cuando, si es aceptable, consti - tuye el indicativo de una correcta formulación y de la consiguiente estabilidad del preparado tópico.

Sobre esta propiedad influyen no sólo la proporción

de los componentes -principios activos y excipientes- (152, 197), sino también la posibilidad de formación de complejos entre ellos, a causa de ciertos enlaces que, generalmente de tipo débil, incrementan la consistencia de las fórmulas que por consiguiente llevan a una menor cesión de los fármacos por parte del excipiente (198).

El concepto de extensibilidad como "capacidad de la pomada para ser extendida en condiciones fijadas" fue expuesto ya en 1956 por DEL POZO y SUÑE (150, 199) que además describen el aparato "extensímetro" del que han arrancado sucesivas revisiones metodológicas.

La técnica que hemos seguido en este estudio ha sido descrita recientemente por nosotros (154), cuyo objetivo es el de asegurar, con una mayor exactitud, la medida de esta propiedad, si bien con anterioridad se describieron y hemos descrito otras (152, 153, 200, 201).

La evaluación posterior de los resultados (Tablas - 53, 56, 59) tras la realización de cinco medidas para cada peso, determinó la supresión, en los tratamientos estadísticos, del peso correspondiente a la caja Petri (50 g), ya que como demostramos en investigaciones precedentes (154), no todo su peso ejercería el efecto perseguido, a diferencia de lo que ocurre con las pesas, pues toda su masa incide directamente sobre el producto a ensayar.

La extensibilidad guarda una correlación lineal y positiva ( $P < 0.05$ ) respecto al peso cuando ambas variables toman expresión logarítmica (Tabla 65); coincidimos pues, con la conclusión ya emitida por nosotros (154).

La extensibilidad de los excipientes en su conjunto o por comparación individual entre pares de ellos difieren estadísticamente ( $P < 0.01$ ) (Tabla 54, 55 y Fig. 27) a excepción de los grupos gel acuoso-excipiente emulsión (con extensibilidad análoga) bajo la acción del peso de 100 g.

Esto explica, desde otro ángulo, la mayor difusión y transferencia mostrada por el M.S.E.G. por encontrar una fluidez semejante en ambos vehículos.

Las pomadas de Fentiazac ácido difieren en su conjunto en cuanto interacción fármaco-excipiente ( $P < 0.01$ ) (Tablas 56, 57 y Fig. 28), circunstancia que concuerda, en cierta medida, con los resultados correspondientes a los ensayos de liberación y difusión como biofarmacéuticos, en los que la capacidad de cesión de cada uno de los excipientes es también diferente. Sin embargo, tras la comparación individual entre grupos (Tabla 58), demostramos que los preparados en gel acuoso y en excipiente anhidro, no difieren significativamente en los pesos de 100, 150 y 300 g. Este resultado consideramos que posee gran validez ya que aproxima a los datos referidos a ensayos de cinética de li

beración. El Fentiazac ácido se encuentra en las mismas - condiciones en los dos excipientes (extensibilidad análoga y solubilizado en ambos) que conlleva a un comportamiento-cinético también semejante, como hemos demostrado con los-datos cuantitativos de difusión y excreción urinaria.

En cuanto a los resultados de extensibilidad para - las pomadas de M.S.E.G. (Tabla 59), llegamos a que las tres pomadas difieren tanto por comparación entre todos los gru- pos en estudio como por la individual entre pares de ellos ( $P < 0.01$ ) (Tablas 60, 61 y Fig. 29).

Esta circunstancia queda asimismo relacionada con - la diferente capacidad que han mostrado los vehículos para ceder al medio, fase receptora o estructuras cutáneas, el- principio activo.

Las pomadas de Fentiazac y Monosalicilato formula - das en excipientes homólogos, han presentado diferencias - significativas con independencia del peso depositado ( $P < 0.01$ ) a excepción de las correspondientes al vehículo emul- sionado, que muestran extensibilidad equivalente con los - pesos de 100 y 500 g, mientras difieren con los restantes- (Tabla 62 y Fig. 30, 31).

En base a ésto la interacción fármaco-excipiente en ambos preparados es semejante, cuando la interposición de las sustancias activas en este vehículo determinó sistemas diferentes, emulsionado el Monosalicilato y en suspensión-emulsión el Fentiazac. Precisamente por esta razón, y de acuerdo con los estudios teóricos de cinética de difusión y actividad termodinámica, se justifican la distinta bio-disponibilidad que hemos obtenido para éstos fármacos en las pomadas con emulsión O/A como excipiente.

Todo ésto nos hace considerar que el masaje que siguió a la aplicación de los preparados en las pruebas "in-vivo", tiene por los resultados esgrimidos un fundamento científico, ya que es a partir de los 150 g. en los ensayos de extensibilidad (equiparables a la presión ejercida para el reparto uniforme del preparado sobre la superficie tratada) cuando se establecen las diferencias entre ambos preparados.

Dentro de estos ensayos también hemos estudiado si la interposición de las sustancias activas en los vehículos determina, o no, cambios en la extensibilidad de los mismos.

Algunos autores (152, 202) han perseguido este objetivo concluyendo que, por regla general, esta cualidad disminuye con la interposición de sólidos en suspensión.

En el presente estudio hemos observado una clara -  
disminución en la extensibilidad de los preparados frente-  
a sus respectivos vehículos (Tablas 53, 56 y 59) con inde-  
pendencia del estado físico de los fármacos y del sistema-  
que determine la interposición.

Por ello el que sean sólidos o líquidos viscosos -  
(Fentiazac y Monosalicilato, respectivamente), como el que  
provoquen pomadas solución, emulsión o emulsión-suspensión,  
no son los determinantes, por sí mismos, de las diferen- -  
cias significativas encontradas (Tablas 62, 63, 64 y Fig.  
30, 31), sino que se deben a la propia interacción fárma -  
co-excipientes, más o menos acentuada según los casos. Tan-  
sólo entre las pomadas de Fentiazac en excipiente anhidro-  
respecto a este vehículo (Tabla 63) y entre el excipiente-  
emulsionado y pomada respectiva de Monosalicilato, en los-  
pesos de 100 y 500 g. (Tabla 64), no hemos encontrado dife-  
rencias en cuanto a extensibilidad.

El excipiente anhidro, que presentó la menor exten-  
sibilidad respecto a los demás vehículos (Tabla 53, Fig 27)  
no modifica estadísticamente su extensibilidad cuando se -  
le incorpora el Fentiazac. A resultados análogos han llega-  
do otros autores (202) cuando incorporan sustancias acti -  
vas como ácido bórico, zinc o azufre a excipientes de este  
tipo, educiendo, como explicación del hecho, la escasa ex-  
tensibilidad del vehículo que no se altera por la adición-

de otros componentes.

Sin embargo, debemos resaltar que entre las pomadas de Monosalicilato en este vehículo respecto a mezclas de - PEG, sí hemos observado diferencias significativas (Tabla-64). Esto nos afirma en la certeza del establecimiento de complejos entre este fármaco y el excipiente, esta vez por medida de una propiedad física del preparado y excipiente- aunándose con las otras, de cinética de liberación o absorción, expuestas en esta Memoria.

El hecho de encontrar diferencias significativas - entre la extensibilidad de pomadas de Monosalicilato en base emulsionada y excipiente emulsión, tan sólo en los pesos de 150 y 300 g. (Tabla 64) y a su vez, entre las pomadas de Fentiazac y Monosalicilato en excipiente O/A en los mismos pesos, consideremos a la fuerza ejercida (150 a 300 g ) como la responsable de la buena difusión del Monosalicilato en el excipiente, ya que determina la mejor disposición del mismo para ser cedido, tras su aplicación bajo masaje, a las estructuras epidérmicas.

A su vez, ésto queda demostrado con los estudios de transferencia si extrapolamos los resultados y los comparamos con los que hemos obtenido a través de los ensayos biofarmacéuticos.

Tras el análisis y comentario de todos estos resultados llegamos a las siguientes conclusiones:

## **CONCLUSIONES**

- 1<sup>a</sup> Se ha establecido un método espectrofotométrico vá lido para la determinación cuantitativa del Fentia zac ácido, tanto en el medio receptor como en la - excreción urinaria del fármaco.
- 2<sup>a</sup> En los ensayos de liberación medicamentosa de Fen- tiazac ácido y Monosalicilato de Etilenglicol, em- soporte sólido, se ha observado como los paráme -- tros tiempo-temperatura favorecen el proceso, a la vez que por sí mismos orientan sobre la compati- bilidad existente entre fármaco-excipientes.
- 3<sup>a</sup> En los estudios de difusión a través de membrana, - se ha comprobado que los tres excipientes (gel - - acuoso, excipiente anhidro-hidrosoluble y emulsión

O/A), liberan a los fármacos, pues se detecta su presencia en el compartimento dérmico, si bien presentan diferencias significativas entre sí, en función de la capacidad de cesión de los principios activos.

- 4<sup>a</sup> En función de los porcentajes de dosis liberados "in vitro" se han clasificado los excipientes con arreglo al mayor o menor poder y velocidad de liberación de las sustancias activas.
- 5<sup>a</sup> Los resultados obtenidos en nuestro estudio de difusión avalan la sensibilidad del método, ya que las concentraciones medias, de uno y otro principio, concuerdan con los estudios teórico-matemáticos de cinética de liberación, al guardar éstas una correlación lineal y positiva con  $\sqrt{t}$  ( $P < 0.001$ ).
- 6<sup>a</sup> En excipientes homólogos se ha puesto de manifiesto asimismo, la dependencia fármaco-excipiente, debida a las propias características del principio activo, pues existen diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre la difusión de Fentiazac ácido y Monosalicilato de Etilenglicol.
- 7<sup>a</sup> A partir de las curvas acumulativas de excreción urinaria se han obtenido los correspondientes valores de "excreción urinaria máxima",  $U_{\infty}$ , cons -

tante para cada uno de los principios activos, según la formulación, por cuyos valores se ha comprobado la influencia de ésta sobre la distinta biodisponibilidad presentada por los preparados.

- 8<sup>o</sup> Se ha demostrado experimentalmente que la excreción urinaria, tanto del Fentiazac ácido como del Monosalicilato de Etilenglicol, sigue una cinética de primer orden, al existir una correlación lineal y negativa entre los logaritmos de las cantidades remanentes en el organismo y el tiempo.
- 9<sup>o</sup> Se demuestra por la constante de eliminación urinaria que la velocidad con la que transcurre la excreción del Fentiazac y Monosalicilato está influenciada por la formulación.
- 10<sup>o</sup> Han quedado establecidas las ecuaciones de las curvas de excreción acumulativa de los distintos preparados de uno y otro principio activo, a través de las cuales se determina la cantidad de fármaco excretada o remanente en cada instante.
- 11<sup>o</sup> Se ha establecido un elevado paralelismo entre los estudios "in vivo" y los realizados mediante procedimientos "in vitro", en lo que a capacidad de ca

sión de sustancias activas por parte de los exci - pientes se refiere. Esto hace que el método ideado para estudiar la difusión medicamentosa sea parti - cularmente útil en la comparación de velocidades - de eliminación de un mismo principio a partir de - diferentes vehículos.

- 12<sup>a</sup> A partir de los estudios de extensibilidad, se ha demostrado que, entre esta propiedad y los pesos - depositados, existe la correlación lineal-positiva ( $P < 0.05$ ), cuando ambas variables toman expresión - logarítmica.
- 13<sup>a</sup> Se ha observado la existencia de diferencias signi - ficativas ( $P < 0.01$ ) entre la extensibilidad de - los preparados estudiados y sus respectivos vehicu - los, con independencia del estado físico de las - sustancias activas y del sistema que determine la - interposición de las mismas.
- 14<sup>a</sup> La extensibilidad de los preparados semisólidos -- puede confirmar los resultados obtenidos en estu - dios de biodisponibilidad o transferencia, cuando - se realicen conjuntamente.

**APENDICE:** abreviatu\_  
ras más usadas

b.m. :Baño maría.

Cm :Concentración media de p.a. en el medio receptor.

D.D. :Extinciones de las diluciones correspondientes en días consecutivos.

E.D. :Extinciones de las diluciones correspondientes a la repetición individual y aleatoria de una de ellas en un mismo día.

E<sub>1</sub> :Excipiente gel acuoso.

E<sub>2</sub> :Excipiente anhidro.

E<sub>3</sub> :Excipiente emulsionado.

FA<sub>1</sub> :Preparado de Fentiazac-gel.

FA<sub>2</sub> :Preparado de Fentiazac-PEG.

FA<sub>3</sub> :Preparado de Fentiazac-éxc.emulsionado.

K<sub>u</sub> :Cte. de eliminación urinaria.

M<sub>1</sub> :Preparado de M.S.E.G.-gel.

M<sub>2</sub> :Preparado de M.S.E.G.-PEG.

M<sub>3</sub> :Preparado de M.S.E.G.-exc.emulsionado.

M.S.E.G. :Monosalicilato de etilen glicol.

p.a. :Principio activo.

PEG :Excipiente a base de Polietilenglicoles.

U :Porcentaje de dosis excretado en un instante dado.

U<sub>∞</sub> :Fracción o porcentaje de dosis excretado a tiempo infinito.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1.- HAM A.W.: "Tratado de Histología. Sistema tegumentario piel y faneras".- Interamericana, Madrid, 1971, pág. 555
- 2.- TORRALBA A.: "Cosmetología teórico-práctica".- Cons. Gral. Col. of. Farm., Madrid, 1978, pág. 17
- 3.- DE DULANTO F., ARMIJO M., CAMACHO-MARTINEZ F., NARANJO R.: "Dermatología Médico-Quirúrgica. Anatomía y Fisiología de la piel".- 1ª ed., ANEL S.A., Granada, 1981, I, págs. 2-6
- 4.- "Remington's Pharmaceutical Sciences. Medicated Applications Ointment".- 15ª ed., Mack Publishing Company, Philadelphia, 1975, pág. 1524
- 5.- Loc. Cit. (1), pág. 558
- 6.- STEWARDT W.M.D., DANTO J.L., MADDIN E.: "Dermatology. Diagnosis and treatment of cutaneous disorders".- The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 1974, III, págs. 5-6

- 7.- MONTAGNA W., LOBITZ W.C.: "The epidermis. The biology of the stratum corneum".- Academy Press, New York, 1964, pág. 387
- 8.- CARRASCAL E.: "Biología celular, Citología".- Univ.- Salamanca, 1979, pág. 42
- 9.- BADEN H.P., FREEDLBERG I.M.: "Protein synthesis in the epidermis".- Fed. Proc., 23, 333 (1964).
- 10.- HAM A.W.: "Tratado de Histología. Tejido epitelial (epitelio)".- Interamericana, Madrid, 1971, pág. 178
- 11.- FITZPATRICK T., ARNDT K.A., CLARK W., EISEN A., VAN SCOTT E., VAUGHAN J.: "Dermatology in General Medicine. Biochemistry and Physiology of the epidermis and their appendages.- Mc Graw-Hill, New York, 1971, pág.91
- 12.- MATOLTSKY A.G., PARAKKAL P.F.: "Membrana-coating granules of keratinizing epithelia".- J. Cell. Biol., 24, 297 (1965).
- 13.- Loc. Cit. (3), pág. 9
- 14.- WOLFF-SCHREINER E.C.: "Ultrastructural cytochemistry of the epidermis".- Int. J. Dermatol., 16, (2), 77 (1977).
- 15.- Loc. Cit. (11), pág. 79
- 16.- GAY-PRIETO J.: "Dermatología".- 7ª ed., Científico-Médica, Barcelona, 1971, pág. 19
- 17.- Loc. Cit. (2), pág. 32
- 18.- BARRY L.R., BARRIE C.F.: "Percutaneous Absorption of drug- Part. 1".- Aust. J. Hosp. Pharm., 6, (1), 7 (1976).

- 19.- GRANT M.: "The use of silicones of protect the skin".- Calif. Med., 80, (1), 21 (1954).
- 20.- STALAND B.: "The use of silicones as skin protection in fistulas and other fluid-discharging processes".- Acta Chirur. Scand., 109, 126 (1955).
- 21.- BATEMAN F.J.A.: "Silicone barrier cream in prevention of bedsores".- Brit. Med. J., 1, 554 (1956).
- 22.- SUSKIND R.: "Industrial and laboratory evaluation of silicone protective cream".- Arch. Ind. Hyg. Occup. Med., 9, 101 (1954).
- 23.- CONRAD G., THOMAS L.D., LIEUTENANT E.H.: "Studies of nitrocellulose, silicone cream as a skin contact allergens".- J. Invest. Dermatol., 21, 111 (1953).
- 24.- LEON M.J., FAULI G.: "Excipientes de aplicación tópicca: su evaluación histórica y previsibles aplicaciones futuras".- I Symposium sobre Farmacia Andaluza, Cádiz, 15-18 Febrero. 1983
- 25.- WEPIERRE J.: "Relations entre la structure de la peau et la perméabilité cutanée".- Bull. Techn. Gattefossé, n° 68, 11 (1975).
- 26.- SZAKALL A.: "Experimentelle daten zur klärung der funktion der wasserbarriere in der epiderms des lebenden menschen".- Berufs-dermatosen, 6, 171 (1958).
- 27.- Loc. Cit. (4), pág. 1525
- 28.- MOSCHELLA S., PILLSBURY D.M., HURLEY H.J.: "Dermatology".- W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1975, I, pág. 65
- 29.- ETTER J.C.: "Pénétration et absorption cutanées".- Bull. Techn. Gattefossé, n° 68, 16 (1975).

- 30.- BLANK I.H., SCHEUPLEIN R.J.: "Permeability of skin".-  
Physiol. Rev., 51, 702 (1971).
- 31.- HELMAN J.: "Farmacotecnia teórica y práctica. Formas  
Farmacéuticas para aplicar sobre la piel".-  
Compañía editorial continental, S.A., México,  
1981, VII, pág. 2088
- 32.- SCHEUPLEIN R.J.: "Mechanisms of percutaneous absorp-  
tion: I. Routes of penetration and the in -  
fluence of solubility".- J. Invest. Dermatol.,  
45, 334 (1965).
- 33.- WAHLBERG J.E.: "Transepidermical or transfollicular  
absorption?".- Acta Dermatol. Veneolol., 48,  
336 (1968).
- 34.- MALKINSON F.D., FERGUSON E.H.: "Percutaneous absorp-  
tion of hydrocortisone-4-<sup>14</sup>C in two humans  
subjects".- J. Invest. Dermatol., 25, 281 (1955).
- 35.- VICKERS C.F.H.: "Existence of reservoir in the stratum  
corneum. Experimental proof".- Archs. Derm.,  
88, 20 (1963).
- 36.- WASHITAKE M.: "Studies on percutaneous absorption of  
drugs".- Chem. Pharm. Bull., 21, (11), 2444  
(1973).
- 37.- MUNRO D.D.: "The relationship between percutaneous  
absorption and stratum corneum retention".-  
Brit. J. Dermatol., 81, (suppl. 4), 92 (1969).
- 38.- WOODFORD R., BARRY B.W.: "Comparative bioavailability  
of proprietary topical corticoid preparations;  
vasoconstrictor assay on thirty creams and gel"  
Brit. J. Dermatol., 91, 323 (1974)
- 39.- MENCZEL E., MAIBACH H.I.: "In vitro human percutaneous  
absorption of benzylalcohol and testosterone:  
epidermal retention".- J. Invest. Dermatol.,  
54, 386 (1970).

- 40.- FRITSCH W., STOUGHTON R.: "The effect of temperature and humidity on the penetration of  $^{14}\text{C}$ -acetyl salicylic acid in excised human skin".- J. Invest. Dermatol., 41, 307 (1963).
- 41.- TREHERNE J.E.: "The permeability of skin to some non-electrolytes".- J. Physiol., 133, 171 (1956).
- 42.- BLANK I.H., SCHEUPLEIN R.J.: "Transport into and within the skin".- Brit. J. Dermatol., 81, (suppl.4) 4 (1969).
- 43.- HIGUCHI T.: "Physical chemical analysis of percutaneous absorption. Process from creams and ointments" J. Soc. Cosmet. Chem., 11, 85 (1960).
- 44.- WEPIERRE J., MARTY J.P.: "Méthodes d'évaluation de l'absorption et de la biodisponibilité des médicaments appliqués sur la peau".- Sci. Techn. Pharm., 8, (4), 171 (1979).
- 45.- BLANK I.H., SCHEUPLEIN R.J., Mc FARLANE D.J.: "Mechanisms of percutaneous absorption. III. The effects of temperature on the transport of non-electrolytes across the skin".- J. Invest. Dermatol., 49, 582 (1967).
- 46.- BARRY L.R., BARRIE C.F.: "Percutaneous absorption of drugs- Part. II".- Aust. Hosp. Pharm., 6, (2), 59 (1976).
- 47.- OSTRENGA J., STINMETZ C., POULSEN B., YETT S.: "Significance of vehicle composition. II: Prediction of optimal vehicle composition".- J. Pharm. Sci., 60, (8), 1180 (1971).
- 48.- SCOTT A., KALZ F.: "Penetration and distribution of  $^{14}\text{C}$ -hydrocortisone in human skin after its topical application".- J. Invest. Dermatol., 26, 149 (1956).

- 49.- MALKINSON F.D.: "The percutaneous absorption of <sup>14</sup>C-labelled steroid by use of the gasflow cell".- J. Invest. Dermatol., 31, 19 (1958).
- 50.- BLANK I.H., GOULD E.: "Penetration of anionic surfactants into skin. II. Study of mechanism which impede the penetration of synthetic anionic surfactants into skin".- J. Invest. Dermatol., 37, 311 (1961).
- 51.- WINKELMANN R. K.: "The relationship of the structure of the epidermis to percutaneous absorption.- Brit. J. Dermatol., 50, 11 (1969).
- 52.- WEIL I., PRINCEN H.M.: "Diffusion theory analysis of transepidermal water loss through occlusive films".- J. Soc. Cosmet., 28, 481 (1977).
- 53.- NICHOLLS S., KING C.S., MARKS R.: "Short term effects of emollients and bath oil on the stratum corneum".- J. Soc. Cosmet. Chem., 29, 617 (1978).
- 54.- Mc KENZIE A.W., STOUGHTON R.B.: "Method for comparing percutaneous absorption of steroids".- Arch. Dermatol., 86, 608 (1962).
- 55.- FELDMANN R.J., MAIBACH H.I.: "Percutaneous penetration of steroid in man".- J. Invest. Dermatol., 52, 89 (1969).
- 56.- WEPIERRE J., MARTY J.P.: "Rôle des excipients et des agents tensioactifs dans l'absorption percutanée des substances chimiques".- Bull. Techn. Gattefossé, n° 70, 53 (1977).
- 57.- MARZULLI F.N., CALLAHAN J.F., BROWN D.W.C.: "Chemical structure and skin penetrating capacity of short series of organic phosphorates and phosphoric acid".- J. Invest. Dermatol., 44, 339 (1965).

- 58.- SCHEUPLEIN R.J., BLANK I.H., BRAUMER G.J. Mc FARLANE D.J.: "Percutaneous absorption of steroids" J. Invest. Dermatol., 52, 63 (1969).
- 59.- BLANK I.H., GOUIDE.: "Penetration of anionic surfactants (surface active agents) into skin. I. Penetration of sodium dodecyl sulfate into excised human skin".- J. Invest. Dermatol., 33, 327 (1959).
- 60.- IDSON B.: "Percutaneous absorption".- J. Pharm. Sci., 64, (6), 901 (1975).
- 61.- BLANK I.H.: "Penetration of low-molecular-weight alcohols into skin. I. Effect of concentration of alcohol and type of vehicle.- J. Invest. Dermatol., 43, 415 (1964).
- 62.- SCHLICHTING A.D., WOODING W., BROWN M.: "Optimizing dermatological formulation of retinoic acid".- J. Pharm. Sci., 62, (3), 388 (1973).
- 63.- STOUGHTON R.B., GLENDENING W.E., KRUSE D.: "Percutaneous absorption of nicotinic acid and derivatives".- J. Invest. Dermatol., 35, 337 (1960).
- 64.- WURSTER D.E., KRAMER S.F.: "Investigation of some factors influencing percutaneous absorption".- J. Pharm. Sci., 50, (2), 288 (1961).
- 65.- GLENDENING W.E., STOUGHTON R.B.: "Importance of the aqueous/lipid partition coefficient for percutaneous absorption of weak electrolytes".- J. Invest. Dermatol., 39, 47 (1962).
- 66.- KATZ M., SHAIKH I.I.: "Percutaneous corticosteroid absorption correlated to partition coefficient" J. Pharm. Sci., 54, (5), 591 (1965).

- 67.- POULSEN B.J., YOUNG E., COQUILLA V., KATZ M.: "Effect of topical vehicle composition on the in vitro release of fluocinolone acetonide and its acetate ester".- J. Pharm. Sci., 57, (6), 928 (1968).
- 68.- WURSTER D.E., DEMPSKI R.E.: "Permeability of excised human keratin to lipid-soluble substances".- J. Pharm. Sci., 50, (5), 588 (1961).
- 69.- WEPIERRE J.: "L'impermeabilité de la peau de la souris à l'égard du perhydroqualène tritié".- Ann. Pharm. Franç., 25, 515 (1967).
- 70.- STOUGHTON R.B.: "Percutaneous absorption".- Arch. Environ. Health., 11, 551 (1965).
- 71.- SARKANY I., HADGRAFT J.W., CARON G.A., BARRET C.W.: "The role of vehicles in the percutaneous absorption of corticosteroids".- Brit. J. Dermatol., 77, 569 (1965).
- 72.- GOLDMAN M.F., POULSEN B.J., HIGUCHI T.: "Enhancement of percutaneous absorption by the use of volatile systems as vehicles".- J. Pharm. Sci., 58, (9), 1098 (1969).
- 73.- STOCKDALE M. "Water diffusion coefficients versus water activity in stratum corneum a correlation and its implications".- J. Soc. Cosmet. Chem., 29, 625 (1978).
- 74.- WEPIERRE J.: "Absorption percutanée".- Prod. Prob. Pharm., 26, 312 (1971).
- 75.- CORNELIS J.: "Mise au point. A propos du D.M.S.O. (diméthylsulfoxyde)".- Ars. Med., 8, 10 (1966).

- 76.- GLAS B.: "Influence of formulation on the bioavailability of drugs in external dosage form".- Comunicación personal. Manifestación Asociación de Farmacéuticos Italianos. Roma, 14 Junio, 1979
- 77.- SANCHEZ DE RIVERA A., RODRIGUEZ A., IZQUIERDO M.: "Estudio de un penetrante en absorción percutánea".- Cien. Ind. Farm., 9, (5), 133 (1977).
- 78.- PLA J.M., DEL POZO A.: "Manual de iniciación a la biofarmacia. Farmacocinética aplicada".- Romargraf, S.A., Barcelona, 1974, pag. 114
- 79.- BLANK I.H.: "Percutaneous absorption: methods of study and factors which influence absorption".- J. Occ. Med., 1960, (1), 6 (1960).
- 80.- VALETTE G., WEPIERRE J.: "International Encyclopaedia of pharmacology and therapeutics".- Section 78, Pergamon Press, London, II, 1971, pag. 29
- 81.- JOSSE-AUZELLE A.M.: "Mise au point d'une méthode d'étude de la pénétration percutanée d'un principe actif à partir de cinq préparations dermatologiques".- R. Sci. Techn. Pharm., 5, (8), 423 (1976).
- 82.- GUYOT-HERMANN A.M., ROBERT M.H., MERLF M.C., RINGARD M.J., TRUBLIN F.: "Cellule de dialyse simple pour l'étude de la libération des principes actifs des pomades et des suppositoires".- B. Soc. Pharm. Lille, 31, 53 (1975).
- 83.- COLL J., CUARTERO F., BEAUS R., VERICAT F.: "Influencia de variaciones en el excipiente sobre la cesión "in vitro" y la biodisponibilidad de un nuevo esteroide formulado en gel tópico".- I Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética, Barcelona, 12-16 Mayo. 1975

- 84.- CHOWHAN Z.T., PRITCHARD R.: "Release of corticoids from oleaginous ointment bases containing drugs in suspension".- J. Pharm. Sci., 64, (5), 754 (1975).
- 85.- FRANZ T.J.: "Percutaneous Absorption on the relevance of in vitro data".- J. Invest. Dermatol., 64, 190 (1975).
- 86.- SMITH G.G., PECK G.E.: "Continuous-flow system for determination of diffusion coefficients: use of a natural membrane".- J. Pharm. Sci., 65, (6), 727 (1976).
- 87.- BILLUPS N.F., SAGER R.W.: "Microbiological and diffusion methods for determining drug release characteristics from ointment bases".- Am. J. Pharm., 137 (2), 57 (1965).
- 88.- WOOD J.A., RISING L.W., HALL N.A.: "Diffusion of sodium salicylate and salicylic acid within hydrophilic ointments-measurement with a new diffusion cell".- J. Pharm. Sci., 51, (5), 668 (1962).
- 89.- ALBERY J.W., HADGRAFT J.: "Percutaneous absorption: interfacial transfer kinetics".- J. Pharm. Pharmacol., 31, (2), 65 (1979).
- 90.- LOTH V.H., BENNINGER-HOLLA A.: "Untersuchungen der arzneistoffliberation aus salben. 1. Mitt.: Entwicklung eines in-vitro-liberations-modells" Pharm. Ind., 40, (3), 256 (1978).
- 91.- PAPINI P., BRAMANTI G., MAZZI G., GRATI G.: "Cessione "in vitro" di ossitettraciclina e doxiciclina da pomate con eccipienti diversi".- Boll. Chim. Farm., 115, 398 (1976).

- 92.- DELONCA H., CHANAL J.L., MAILLOLS H., GHEBBI R.: "Méthode d'étude in vitro des préparations cutanées semi-solides. Comparaisons in vitro-in vivo.- Pharm. Acta Helv., 52, (3), 51 (1977).
- 93.- BRAMANTI G., PISATURO G., MAZZI G., MURA P., PAPINI P.: "Release of drugs in vitro from different dermatological preparations".- Boll. Chim. Farm., 119, 738 (1980).
- 94.- AINSWORTH M.: "Methods for measuring percutaneous absorption".- J. Soc. Cosmet. Chem., 11, 69 (1960).
- 95.- AGUIAR A.J., WEINER M.A.: "Percutaneous studies of chloramphenicol".- J. Pharm. Sci., 58, (2), 211 (1969).
- 96.- FOREMAN M.I., CLANACHA I., KELLY I.P.: "The diffusion of nandrolone through occluded and non-occluded human skin".- J. Pharm. Pharmacol., 30, (3), 152 (1978).
- 97.- AIACHE J.M., AIACHE S., GUILPAIN G., PAIRE M.: "Evaluation de la biodisponibilité des principes actifs contenus dans les formes galéniques destinées à la voie cutanée".- Boll. Chim. Farm., 116, 63 (1977).
- 98.- GUMMA A.: "Mesure de la biodisponibilité d'un principe actif appliqué par voie topique".- Pharm. Acta Helv., 46, 730 (1971).
- 99.- RITSCHEL W.A., SIEGEL E.G., RING P.E.: "Biopharmaceutical evaluation of topical Tar preparation".- Sci. Pharm., 43, (1), 11 (1975).
- 100.- WARDYNSKA H.: "Resorpcja witaminy A przez skórę poza ustrojem".- Acta Polon. Pharm., XXXIII, (3), 403 (1976).

- 101.- MARION-LANDAIS G., KRUM J.R.: "Specialized vehicles to augment percutaneous penetration of topical steroids".- *Curr. Therap. Res.*, 25, (1), 56 (1979).
- 102.- JIMBOW K., OBATA H., PATHAK M.A., FITZPATRICK T.B.: "Mechanism of depigmentation by hydroquinone" *J. Invest. Dermatol.*, 62, 436 (1974).
- 103.- CHOMAN B.R.: "Autoradiographic studies on percutaneous absorption".- *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 11, 138 (1960).
- 104.- FREDRIKSSON T.: "Influence of solvents and surface active agents on the barrier function of the skin towards sarin. II. Increase in rate of absorption".- *Acta Dermatol. Vener.*, 49, 55 (1969).
- 105.- RIMBAU V., FORM J.: "Percutaneous absorption of <sup>3</sup>H-labelled flupamesone in man".- *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacok.*, 4, 206 (1976).
- 106.- MOORE-ROBINSON M., CHRISTIE G.: "Vasoconstrictor activity of topical corticosteroids. Methodology and results".- *Brit. J. Dermatol.*, 82, (Suppl. 6), 86 (1970).
- 107.- GRASSO P., LANDSDOWN A.B.G.: "Methods of measuring and factors affecting percutaneous absorption".- *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 23, 481 (1972).
- 108.- POULSEN B.J., BURDICK K., BESSLER S.: "Paired comparison vasoconstrictor assays".- *Arch. Derm.*, 109, 367 (1974).
- 109.- WHITEFIELD M., Mc KENZIE A.W.: "A new formulation of 0.1% hydrocortisone cream with vasoconstrictor activity and clinical effectiveness".- *Brit. J. Dermatol.*, 92, 585 (1975).

- 110.- MOES-HEMSCHER V., JAMINET F.: "Influence de la composition du véhicule sur la libération et pénétration percutanée de corticostéroïdes".- J. Pharm. Belg., 30, (4), 390 (1975).
- 111.- BARRY B.W.: "Bioavailability of topical steroids".- Dermatologica, 152, (Suppl. 1), 47 (1976).
- 112.- WILSON L.: "The clinical assessment of topical corticosteroid activity".- Brit. J. Dermatol., 94, (Suppl. 12), 33 (1976).
- 113.- BEAUS R., VERICAT F., COLL J.: "Biodisponibilidad de esteroides en diversas preparaciones tópicas comerciales frente a fluocinónido. Estudio doble ciego de la vasoconstricción en voluntarios".- I Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética, Barcelona, 12-16 Mayo. 1975.
- 114.- WOODFORD R., BARRY B.W.: "Bioavailability and activity of topical corticosteroids from a novel drug delivery system, the aerosol quick-break foam".- J. Pharm. Sci., 66, (1), 99 (1977).
- 115.- STOGHTON R.B.: "Vasoconstrictor activity and percutaneous absorption of glucocorticoids".- Arch. Derm., 99, 753 (1969).
- 116.- REID J., BROOKES D.B.: "Topical corticosteroids and experimental evaluation of the vasoconstrictor test as an index of anti-inflammatory activity".- Brit. J. Dermatol., 80, 328 (1968).
- 117.- ALBERY J.W., HADGRAFT J.: "Percutaneous absorption: In vivo experiments".- J. Pharm. Pharmacol., 31, (3), 140 (1979).
- 118.- FOUSSARD-BLANPIN O., DEVILLE M.: "A propos d'un nouvel anesthésique local. Ether de l'homomythénol et diéthylaminoéthanol".- Anesth. Anal. Réan., 24, 131 (1967).

- 119.- LAPIERRE CH.: "Suite des recherches sur les modifications des glandes sebacées par badigeonnages de la peau à l'aide d'hormones sexuelles dissoutes dans un nouvel excipient neutre et pénétrant".- *Dermatologica*, 109, (6), 345 (1954).
- 120.- HANNUKSELA M., KOSA M., PIRILA V.: "Allergy to ingredients of vehicles".- *Cont. Derm.*, 2, 105 (1976).
- 121.- COQUET B.: "Végétols tests de tolérance cutanée, irritation oculaire".- *Bull. Techn. Gattafossé*, n° 74, 106 (1973).
- 122.- AIACHE J.M., DUCROUX PH.: "Evaluation de la biodisponibilité topique de l'acétate d'hydrocortisone".- *Journées Galéniques. St. Rémy de Provence*. 1976
- 123.- BARR M.: "Percutaneous absorption".- *J. Pharm. Sci.*, 51, (3), 395 (1962).
- 124.- GEMMELL D.H.O., MORRISON J.C.: "Comparative studies on percutaneous absorption".- *J. Pharm. Pharmacol.*, 10, 553 (1958).
- 125.- PEDRAZZINI S.: "Assorbimento per via epicutanea de fentiazac".- *Boll. Chim. Farm.*, 117, 19 (1978).
- 126.- ZANOLO G., GIACCHETTI C., MONDINO A., SILVESTRI S., BIANCHI E., SEGRE G., GOMARASCA P.: "Pharmacokinetics of fentiazac in rats and monkeys" *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 31, (II), 1098 (1981).
- 127.- JABOT P.: "Influence de l'excipient sur la pénétration cutanée et rectale du glycérylgaïacol et du salicylate de glycol".- *Tesis Doctoral, Univ. Clermont-Ferrand*. 1971

- 128.- DELAVEAU P., FRIEDRICH-NOUE PH.: "Absorption cutanée et élimination urinaire d'une combinaison sulfadiazine-argent utilisée dans le traitement des brûlures".- *Thérapie*, 32, 563 (1977).
- 129.- ZANGLIO G., GIACCHETTI C., MONDINO A., SILVESTRI S., DE MARCHI G., GOMARASCA P.: "Azione topica di fentiazac: Assorbimento per via epicutanea".- *Boll. Chim. Farm.*, 119, 209 (1980).
- 130.- BROWN K., CAVALLA J., GREEN D., WILSON A.: "Diaryloxa-zole and diarylthiazolealkanoic acids: Two novel series of nonsteroidal anti-inflammatory agents".- *Nature*, 219, 164 (1968).
- 131.- MARMO E., ROSSI F., DI NOLA R., CAZZOLA F.: "Ricerche sperimentali sull'acido 2-fenil-4-p.clorofenil-tiazol-5-ilacético, farmaco ad attività anti-reazionale, antidolorifica ad antipiretica (BR 700)".- *Gazz. Med. It.*, 133, 337 (1974).
- 132.- BROWN K., CATER D., CAVALLA J., GREEN D., NEWBERRY R., WILSON A.: "Nonsteroidal antiinflammatory agents. I. 2,4 diphenylthiazole-5-acetic acid and related compounds".- *J. Med. Chem.*, 17, (11), 1177 (1974).
- 133.- DAVIES J.E., KELLET D.N., PENNINGTON J.C.: "The anti-inflammatory and analgesic effects of Norvedan a novel, non-steroidal agent".- *Archs. Int. Pharmacod. Ther.*, 221, (2), 274 (1976).
- 134.- SOLIANO A., DE FABIANI F.: "Estudio controllato cross-over di Fentiazac VS Indometacina nelle floggi osteo-articolari".- *Min. Ort.*, 29, (5), 269 (1978).
- 135.- D'ATRI G., GALIMBERTI E., CERUTTI S., FORLANI A.: "Attività antiinfiammatoria e antidolorifica di una nuova molecola di sintesi: l'acido 2-fenil-4-p.clorofenil-tiazol-5-ilacético".- *Boll. Chim. Farm.*, 114, 107 (1975).

- 136.- FUMERO S., MONDINO A., SILVESTRI S., ZANOLO G., DE MARCHI G., PEDRAZZINI S.: "Metabolism of Fentiazac".- *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 30, (II), 1253 (1980).
- 137.- ANTOGNETTI R.: "Tollerabilità di Fentiazac per somministrazione a lungo termine nell'uomo".- *Min. Ort.*, 29, (5), 241 (1978).
- 138.- LEON M. J., JIMENEZ-CASTELLANOS M.R., BUENESTADO C., FAULI C.: "Estudio de la liberación "in vitro" de dos principios activos a partir de tres bases dermatológicas".- XV Congreso Internacional de la Sociedad Farmacéutica del Mediterraneo Latino, Palermo, 20-23 Mayo. 1982
- 140.- IZGU E., LEE C.O.: "Measuring the relative diffusion of medicaments from ointment bases".- *J. Amer. Pharm. Ass.*, 15, 396 (1954).
- 141.- AIACHE J.M., AIACHE S., DARWICHE B.: "Influence des caractères des émulsions sur la libération et la diffusion des principes actifs in vitro".- *Parf., cosmet., érom.*, 36, 61 (1980).
- 142.- PAIRE M.: "Contribution à l'évaluation biopharmaceutique des préparations à usage dermatologique".- Tesis Doctoral, Univ. Clermont-Ferrand. 1977
- 143.- DARWICHE B.: "Etude de l'influence des caractères des émulsions sur la libération et la diffusion des principes actifs "in vitro".- Tesis Doctoral, Univ. Clermont-Ferrand. 1979
- 144.- LEON M.J., JIMENEZ-CASTELLANOS M.R., BUENESTADO C., ORTEGA M., RABASCO A., FAULI C.: "Aportación al estudio espectrofotométrico de la liberación "in vitro" del Fentiazac a partir de tres bases dermatológicas".- II Congreso Nacional de Química Terapéutica, Madrid, 18-22 Mayo. 1982

- 145.- DOMENECH i MASSONS J.M.: "Bioestadística. Métodos estadísticos para investigadores".- 3ª ed., HERDER, Barcelona, 1980, pág. 318
- 146.- HULDAH PH. D.: "Introducción a la bioestadística".- ATIKA, Madrid, 1966, pág. 194
- 147.- FRANQUESA R.: "Determinación de la estabilidad de medicamentos".- Cien. Ind. Farm., 3, (4), 108 (1971).
- 148.- GALIMARD J.E.: "Metabolism of sodium salicylate. II. New method of determination in biological fluids".- Bull. Soc. Chim. Biol., 26, (7-9), 386 (1944).
- 149.- GALIMARD J.E.: "Metabolism of sodium salicylate. IV. Clinical microdetermination".- Bull. Soc. Chim. Biol., 28, (1-3), 152 (1946).
- 150.- RAO C.N.: "Espectroscopia ultravioleta y visible".- Alhambra, S.A., Madrid, 1970, pág. 84
- 151.- BUENESTADO C., SUÑE J.M.: "Extensibilidad y granulometría de pomadas suspensión. 3. Extensibilidad: Resultados experimentales".- Galenica Acta, 25, 193 (1972).
- 152.- LEON M.J., JIMENEZ-CASTELLANOS M.R., BUENESTADO C., DOMINGUEZ A., RABASCO A., ORTEGA M., FAULI C.: "Extensibilidad de pomadas. I. Influencia de los componentes activos y de los excipientes" OFFARM, 1, (3), 177 (1982).
- 153.- JIMENEZ-CASTELLANOS M.R., LEON M.J., CASATI J., DOMINGUEZ A., FAULI C.: "Extensibilidad de pomadas. II. Aplicación del planímetro al estudio de la extensibilidad".- OFFARM, 1, (4), 215 (1982).
- 154.- JIMENEZ-CASTELLANOS M.R., LEON M.J., FAULI C.: "Determinación en placas fotográficas de la extensibilidad de productos dermofarmacéuticos con ayuda del planímetro".- V Congreso Europeo de Dermofarmacología, Islas Canarias, 31 Mayo-5 Junio. 1982

- 155.- Loc. cit. (145), pág. 413
- 156.- Loc. cit. (145), pág. 433
- 157.- ZUBER M., CHEMTOB C.: "Disponibilité a partir des formes dermiques. I. Méthodes d'étude de la libération "in vitro".- R. Sci. Techn. Pharm., 6, (1), 9 (1977).
- 158.- WAHLBERG J.E.: "Percutaneous absorption".- Curr. Probl. Dermatol., 5, 1 (1973).
- 159.- BOUCHE R., DE HERDT C., DENIS J.P., EVRARD-VERSLUYS J., JONAS J., LAMBERT N., MAES R., VANDERHAEGHE H.: "Résultats du dosage de la prednisolone par colorimétrie à l'isoniazide et au triphényl-tétrazolium".- J. Pharm. Belg., 26, (3), 223 (1971).
- 160.- BELMONTE A. TSAI W.: "Benzocaine diffusion from polyethylene glycol through human stratum corneum" J. Pharm. Sci., 62, (4), 517 (1973).
- 161.- STOLAR M.E., ROSSI G.V., BARR M.: "The effect of various ointment bases on the percutaneous absorption of salicylate".- J. Amer. Pharm. Ass. Sci., 49, 144 (1960).
- 162.- LOVEDAY D.F.: "An "in vitro" method for studying percutaneous absorption".- J. Soc. Cosmet. Chem., 12, 224 (1961).
- 163.- BAICHWAL M.R., DESHPANDE S.G.: "Study of ointment bases. Part II: Influence of bases on the release of medicaments".- Ind. J. Pharm., 29, 33 (1967).
- 164.- SPANG-BRUNNER B.H., SPEISER P.P.: "Release of a drug from homogeneous ointments containing drug in solution".- J. Pharm. Pharmacol., 28, 23 (1976).

- 165.- DOELKER E., BURI P.: "In vitro release of an amine in its salt form by a water-soluble polyelectrolyte. I. Survey of the problem and development of an in vitro method".- *Pharm. Acta Helv.*, 47, (8-9), 495 (1972).
- 166.- PLA J.M., DEL POZO A.: "Manual de iniciación a la Biofarmacia. Farmacocinética aplicada".- Romargraf S.A., Barcelona, 1974, pág 108.
- 167.- OSTRENGA J., HALEBLIAN J., POULSEN B., MUELLER N., SHASTRI S.: "Vehicle design for a new topical steroid, fluocinonide".- *J. Invest. Dermatol.*, 56, 392 (1971).
- 168.- BAGATELL F.K., AGUSTINE M.A.: "Evaluation of corticosteroids intended for use as topical anti-inflammatory".- *Drugs Curr. Ther. Res.*, 16, 748 (1974).
- 169.- GUILLOT B.: "Les excipients et la peau".- *Il Farmaco*, ed. pr., XXIV, (4), 189 (1964).
- 170.- VERICAT F., BEAUS R., COLL J.: "Variaciones en la biodisponibilidad de esteroides en uso tópico según la formulación del excipiente".- I Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética, Barcelona, 12-16 Mayo. 1975.
- 171.- BARRET C.W., HADGRAFT J.W., SARKANY I.: "The influence of vehicles on skin penetration".- *J. Pharm. Pharmacol.*, 16, 104T (1964).
- 172.- MARTY J.P., MIMURA K., WEPIERRE J.: "Influence des surfactifs dans l'absorption percutanée de l'oestradiol-<sup>3</sup>H incorporé à des bases émulsionnées".- *Labo-Pharma, prob. techn.*, 255, 608 (1976).
- 173.- KATZ M., POULSEN B.J.: "Corticoid, vehicle and skin interaction in percutaneous absorption".- *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 23, 565 (1972).

- 174.- GARNIER J.P.: "Absorption percutané".- *Prod. Prob. Pharm.*, 26, 312 (1971).
- 175.- WAGNER J.G.: "Biopharmaceutics absorption aspects".- *J. Pharm. Sci.*, 50, (3), 359 (1961).
- 176.- MAYER A., MAYER K.: "Oldószerek alkar mazása gyógyszeres kenőcsökben".- *Gyógyszerészet*, 20, 252 (1976).
- 177.- NICHOLLS J.T.: "A multicentre trial of "Metosyn"-A new topical steroid in a complex two phase base".- *Curr. Ther. Res.*, 14, (6), 259 (1972).
- 178.- COLL J., CUARTERO F., BEAUS R., VERICAT F.: "Influencia de variaciones en el excipiente sobre la cesión "in vitro" y la biodisponibilidad de un nuevo esteroide en gel tópico".- I Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética, Barcelona, 12-16 Mayo. 1975
- 179.- OSTRENGA J., STEINMETZ C., POULSEN B.: "Significance of vehicle composition, skin penetrability, and clinical efficacy".- *J. Pharm. Sci.*, 60, (8), 1175 (1971).
- 180.- Mac KEE G.H., SULZBERGER M.B., HERRMANN M.B., BAER R.L.: "Histological studies of percutaneous penetration with special reference to the effect of vehicles".- *J. Invest. Dermatol.*, 6, 43 (1945).
- 181.- TABER D., LAZANAS J.C., FANCHER O.E., CALANDRA J.C.: "The accumulation and persistence of antibacterial agent in human skin".- *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 22, 369 (1971).
- 182.- BLACK J.G., SPROTT W.E., HOWES D., RUTHERFORD T.: "Per-cutaneous absorption of hexachlorophene".- *Toxicol.*, 2, 127 (1974).

- 183.- FEVRE P., AIACHE J.M., JABOT P., ARMOIRY P.: "Influence de l'excipient sur l'absorption du salicylate de glycol administré en pommades par voie cutanée et par voie rectale".- Ren. Con. Soc. Biol., 164, (8-9), 1700 (1970).
- 184.- AIACHE J.M., FEVRE P., JABOT P., BEX J.F., ARMOIRY F.: "Contribution à l'étude du rôle de l'excipient dans le métabolisme du médicament".- Prod. Prob. Pharm., 25, 659 (1970).
- 185.- JAMINET F.: "Excipients et biodisponibilité des médicaments".- Pharmakon, 29, 25 (1977).
- 186.- BETTLEY F.R., DONOGHUE E.: "Effect of soap on the diffusion of water through isolated human epidermis" Nature, 185, 17 (1960).
- 187.- POLANO M.K.: "The interaction of detergents and the human skin".- J. Soc. Cosmet. Chem., 19, 3 (1968).
- 188.- SZAKALL A., SCHULZ K.H.: "Die Permeation von Fettalkoholsulfaten und Natriumseifen definierter Kettenlänge (C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub>) in die intakte menschliche Haut, ihr Zusammenhang mit den Reizwirkungen".- Fette Seifen Anstrich., 62, 170 (1960).
- 189.- SCALA J., Mac OSKER D.E., RELLER H.H.: "The percutaneous absorption of ionic surfactants".- J. Invest. Dermatol., 50, 371 (1968).
- 190.- FAUCHER J.A., GODDARD E.D.: "Interaction of keratinous substrates with sodium lauryl sulfate: I. Sorption".- J. Soc. Cosmet. Chem., 29, 323 (1978).
- 191.- FAUCHER J.A., GODDARD E.D.: "Interaction of keratinous substrates with sodium lauryl sulfates: II. Permeation through stratum corneum".- J. Soc. Cosmet. Chem., 29, 339 (1978).

- 192.- ZECCHI V., RODRIGUEZ L., CINI M. VITI V.: "Parametri di formulazione e permeabilità cutanea alla penetrazione dei farmaci".- *Il Farmaco*, ed. pr., XXXIII, (1), 34 (1978).
- 193.- POPOVICI A.: "Modificarea permeabilitatii cutanea dupa aplicarea preparatelor dermice. Nota III. Actiunea unguentelor cu vitamine".- *Farmacia*, XXIII, (2), 105 (1975).
- THIEBLOT L., BLAISE S., BIDET J.M.: "Activiti anti-inflammatoire comparée du salicylate de diéthyl-amine, du salicylate de sodium et de la cortisone".- *Thérapie*, XV, 1048 (1960).
- 195.- POLAND M.K., PONEC M.: "Dependence of corticosteroid penetration on the vehicle".- *Arch. Derm.*, 112, 675 (1976).
- 196.- HELMAN J.: "Farmacotecnia teórica y práctica. Formas Farmacéuticas para aplicar sobre la piel".- Compañía editorial continental, S.A., Mejico, 1981, VII, pág 2125
- 197.- BUENESTADO C., SUNE J.M.: "Extensibilidad y granulometria en pomadas suspensión. I. Materiales utilizados" *Galénica Acta*, 25, 69 (1972).
- 198.- SHERRIFF M., ENEVER R.P.: "Rheological and drug release properties of oil gels containing colloidal silicone dioxide".- *J. Pharm. Sci.*, 68, (7), 842 (1979).
- 199.- SUNE J.M.: "Estudio de Emulsiones consistentes y excipientes emulgentes para pomadas: Excipientes absorbentes".- Tesis Doctoral, Univ. Barcelona. 1955

- 200.- SUÑE J.M., FRIGOLS J., GARCIA-FERNANDEZ M.P.: "Extensibilidad en pomadas. II. Modificaciones de la técnica original de determinación de la extensibilidad".- XXI Congreso Internacional de Ciencias Farmacéuticas, Pisa, Septiembre. 1961
- 201.- SUÑE J.M.: "Extensibilidad en pomadas. III. Nueva aportación a su determinación".- Ars Pharm., IV, (6), 1 (1963).
- 202.- BUENESTADO C., SUÑE J.M.: "Extensibilidad y granulometría en pomadas suspensión. 3. Extensibilidad".- Galénica Acta, 26, 25 (1973).

# FACULTAD DE FARMACIA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes  
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de  
D.ª MARIA JOSEFA LEON WASMER

titulada "APORTACIÓN AL ESTUDIO ACTUALIZADO DE LA INFLUENCIA DE LOS  
EXCIPIENTES SOBRE LA BIODISPONIBILIDAD DE LOS PREPARADOS FARMACÉUTICOS  
DE USO TÓPICO"

Se acordó otorgarle la calificación de Sobresaliente  
cum laude

Sevilla, 16 de Diciembre de 1.983

El Vocal,

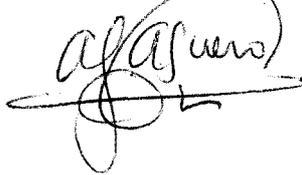


El Presidente,

El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,

