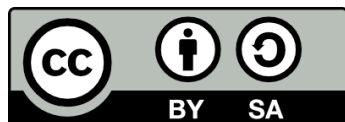




UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Aportación a la absorción percutánea de una serie de dihidropiridinas

Ignacio Díez Martín



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- Compartigual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - Compartigual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0. Spain License.**

**APORTACION A LA ABSORCION PERCUTANEA  
DE UNA SERIE DE DIHIDROPIRIDINAS**

**IGNACIO DIEZ MARTIN**

2.1.2 Membrana de difusión. . . . .	40
2.1.3 Estudio de permeación. . . . .	41
2.1.3.1 Comprobación de la integridad de la membrana. . . . .	42
2.1.3.2 Toma de muestras. . . . .	42
2.1.5 Técnicas analíticas. . . . .	43
2.1.5.1 Centelleo líquido. . . . .	43
2.1.5.1.1 Modo operativo. . . . .	45
2.1.5.1.2 Método de calibración. . . . .	45
2.1.5.2 Cromatografía líquida de alta eficacia. . . . .	48
2.1.5.2.1 Condiciones cromatográficas. . . . .	48
2.1.5.2.2 Modo operativo. . . . .	50
2.1.5.2.3 Rectas de calibrado. . . . .	50
2.1.5.2.4 Validación de la técnica analítica. . . . .	51
2.1.6 Tratamiento de los datos experimentales. . . . .	54
2.1.6.1 Estimación de los parámetros de permeación. . . . .	54
2.1.6.2 Estimación de la utilización potencial de los fármacos estudiados en forma de SAT. . . . .	55
2.2 Determinación de la solubilidad. . . . .	57
2.2.1 Solubilidad en etanol 50%. . . . .	57
2.2.2 Solubilidad en presencia de penetrantes. . . . .	57
2.3 Determinación del coeficiente de reparto aparente octanol/agua. . . . .	58
2.4 Determinación del factor de capacidad cromatográfico extrapolado a 100% de agua en la composición del eluyente. . . . .	58
2.5 Teorías de la absorción de medicamentos. . . . .	60
2.6 Justificación de los penetrantes utilizados. . . . .	63
2.7 Metodología utilizada para la evaluación de la actividad de los penetrantes. . . . .	66
2.8 Métodos estadísticos. . . . .	72
3 Bibliografía. . . . .	73
 V Resultados. . . . .	 77
1 Validación de la técnica analítica. . . . .	77
1.1 Validación de la técnica analítica por CLAE. . . . .	77
1.2 Validación de la técnica analítica por centelleo líquido. . . . .	94
2 Parámetros físico-químicos de los fármacos ensayados. . . . .	94
2.1 Solubilidad en etanol al 50% . . . . .	94
2.2 Coeficiente de reparto octanol-agua. . . . .	95

**Indice**

Agradecimientos.

I	Introducción. ....	1
II	Objetivos del estudio. ....	5
III	Antecedentes. ....	7
	1 Introducción. ....	7
	2 Aspectos estructurales. ....	8
	3 Aspectos farmacológicos. ....	8
	3.1 Propiedades farmacodinámicas. ....	10
	3.1.1 Acciones sobre el tejido vascular. ....	11
	3.1.2 Acciones en las células cardíacas. ....	12
	3.1.3 Efectos hemodinámicos. ....	13
	4 Aspectos farmacocinéticos. ....	15
	5 Propiedades terapéuticas. ....	24
	5.1 Actividad antianginosa. ....	25
	5.2 Actividad hipotensora. ....	25
	5.3 Hemorragia subaracnoidea. ....	27
	5.4 Migraña. ....	27
	5.5 Bibliografía. ....	27
IV	Material y Métodos. ....	33
	1. Material. ....	33
	1.1 Fármacos. ....	33
	1.2 Penetrantes. ....	36
	1.3 Sustancias marcadas. ....	37
	1.4 Reactivos. ....	37
	1.5 Animales. ....	38
	1.6 Material auxiliar. ....	38
	2. Métodos. ....	39
	2.1 Ensayos de permeación. ....	39
	2.1.1 Célula de difusión. ....	39

---

2.3 Factor de capacidad cromatográfico extrapolado a 100%	
agua en la composición del eluyente. . . . .	96
3 Estudios de permeación en ausencia de penetrantes. . . . .	96
4 Solubilidad en presencia de penetrantes. . . . .	115
5 Estudios de permeación en presencia de penetrantes. . . . .	116
VI Discusión. . . . .	171
1 Estudio comparativo de las dihidropiridinas estudiadas. . . . .	173
2 Predicción de las concentraciones en estado de equilibrio estacionario. . . . .	176
3 Influencia de los penetrantes en la permeación del nicardipino y el felodipino. . . . .	179
3.1 Influencia de los penetrantes en los parámetros de permeación del nicardipino. . . . .	179
3.2 Influencia de los penetrantes en los parámetros de permeación del felodipino. . . . .	186
4 Predicción de la concentración en estado de equilibrio estacionario del nicardipino y el felodipino, que se obtendría con los penetrantes ensayados. . . . .	198
5 Bibliografía. . . . .	202
VII Resumen y conclusiones. . . . .	205

## I.-INTRODUCCION

Actualmente está plenamente comprobado que la piel humana intacta resulta en muchos casos una vía de administración eficaz para fármacos destinados a ejercer una acción sistémica. De hecho, hoy en día se están multiplicando los estudios de todo tipo dirigidos a investigar y seleccionar potenciales fármacos adecuados para su aplicación transdérmica, como lo demuestra la bibliografía al respecto. Por otra parte, estos estudios han cristalizado en el campo de la terapéutica, en la comercialización y aplicación clínica de distintos fármacos formulados en formas de administración transdérmica (*SAT*) que presentan las máximas garantías en cuanto a comodidad de uso, eficacia y seguridad, y se comparan favorablemente con las formas farmacéuticas convencionales del fármaco en cuestión para la casi totalidad de sus indicaciones terapéuticas. Así, por ejemplo, primero en el extranjero y posteriormente en España, se comercializan especialidades farmacéuticas como sistemas de aplicación transdérmica (*SAT*), de varios fármacos: nitroglicerina, escopolamina, clonidina entre otros.

Resulta obvio, por sabido, pormenorizar las numerosas ventajas de los *SAT*, en los casos que resultan aplicables, frente a la administración de los fármacos por las clásicas vías enteral y parenteral, por tratarse de ventajas explícitamente aceptadas por la mayoría de organismos sanitarios oficiales, como la FDA americana, e incluso por el nuestro, puesto que hace ya cierto tiempo que se ha autorizado en España especialidades farmacéuticas en forma de *SAT*, previamente registradas y clínicamente ensayadas en otros países de la Comunidad Europea.

Entre las ventajas más sobresalientes de los *SAT* cabe mencionar, por ejemplo, el aumento de la eficacia terapéutica, la reducción de la mayoría de los efectos secundarios indeseables, la posibilidad de tratamientos prolongados tras dosis únicas, la disminución de la variabilidad intra e interindividual de la respuesta observada muy frecuentemente con las formas farmacéuticas convencionales y la posibilidad en su utilización de una interrupción rápida, prácticamente inmediata, de la medicación cuando ello resulta conveniente.

Por otro lado, no resulta sorprendente afirmar que no todos los fármacos que se administran en clínica por vía sistémica son susceptibles de ser aplicados como *SAT*; bastará sólo recordar que las principales características farmacodinámicas, farmacocinéticas y fisicoquímicas que han de presentar los fármacos para aplicarlos como *SAT* son:

- a) Poseer una elevada actividad intrínseca.
- b) Presentar una semivida biológica relativamente corta.
- c) Poseer un coeficiente de reparto que resulte favorable para su paso a través de la piel.

Estas premisas son básicas para que el paso del fármaco a través de la piel comporte, en cuanto a la magnitud y velocidad del fenómeno, una elevada constante de permeabilidad ( $K_p$ ), a poder ser tras un período de latencia ( $T_l$ ) mínimo y que, en último término, sea posible un flujo ( $J$ ) de fármaco que permita, en las condiciones reales de su aplicación clínica, que las cantidades permeadas ( $Q_t$ ) mediante el *SAT* correspondan, como mínimo, a las dosis terapéuticas usuales tras su administración convencional. Con la administración transdérmica, los efectos sistémicos deseados deben lograrse y mantenerse durante todo el período de actuación de una dosis única aplicada en forma de *SAT*. En conjunto, ello representa, por supuesto, una serie de requisitos y limitaciones que sólo unos pocos fármacos podrán cumplir en su totalidad, pero no ha de olvidarse que las características apuntadas son condiciones "*sine qua non*", dentro de cada grupo terapéutico, que han de presentar los fármacos candidatos potenciales a ser administrados como *SAT*.

Las exigencias que debe cumplimentar un fármaco para ser formulado en forma de *SAT* comentadas anteriormente, sólo es posible ponerlas de manifiesto, hoy por hoy, experimentalmente, mediante los modelos y los métodos juzgados como más idóneos para esta finalidad; de ahí que los estudios "in vitro" jueguen actualmente un papel preponderante y resulte del todo insoslayable acudir a ellos en las fases iniciales de cualquier investigación sobre el tema.

Aparte de la investigación experimental necesaria para la calificación farmacodinámica y farmacocinética de un candidato potencial para ser aplicado como *SAT*, de cuyas dotes debe disponerse antes del inicio de este tipo de experimentación, cabe señalar que la administración transdérmica sólo resulta factible tras haber comprobado que el fármaco es capaz de atravesar la membrana cutánea (piel humana o, alternativamente, piel de animal de experimentación tomado como modelo de aproximación), por lo general mediante métodos "in vitro", muchos de ellos actualmente estandarizados por completo y de amplia difusión a través de la bibliografía especializada; posteriormente, si los resultados de estos ensayos permiten suponer, con ciertas garantías, que será posible aplicar el fármaco como *SAT* para su uso clínico, los resultados experimentales obtenidos permitirán iniciar el diseño y la experimentación de los sistemas seleccionados como óptimos, primeramente aplicados a voluntarios sanos y más adelante en pacientes, en el marco de las correspondientes fases de los estudios clínicos llevados a cabo para comprobar que se alcanza la finalidad de los sistemas de aplicación transdérmica: optimizar la biodisponibilidad del fármaco, asegurar al máximo su eficacia terapéutica y minimizar los efectos secundarios indeseables que muy frecuentemente se presentan tras su administración parenteral u oral.

### 1. Bibliografía

- 1 ZAFFARONI, A. en "*Dermal and Transdermal Absorption*" de Brandau, R., Lippold, B.H. Wissenschaftliche, Stuttgart (1982).
- 2 CHIEN, Y.W. *Drug Develop. Ind. Pharm.* 9: 497-520, (1983).
- 3 GUY, H.R., HADGRAFT, J. *F. Pharm. Int.* 112-116, (1985).
- 4 VINOD, P., SHAH, W.P., SKELLY, J. *F. Clin. Res. Pract and Drug Reg. Affairs.* 4: 433-444, (1986).
- 5 YANO, T. *Life Science.* 39: 1043, (1986).
- 6 FLYNN, G.L., STEWART, B., *Drug Research.* 13:169-185 (1988).

- 7 AKAZAWA, M. *International F. Pharm.* 50:53-60 (1989).
- 8 SCOTT, R.C., GUY, R.H., HADGRAFT, J. *Prediction of Percutaneous Penetration*. IBC Technical Services. London (1990).

## II. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo de la presente Memoria, de acuerdo con lo expuesto en el transcurso de esta Introducción, es averiguar de una serie de fármacos antagonistas del calcio cual o cuales son susceptibles de ser utilizados en clínica formulados en formas de administración transdérmica (*SAT*). En este sentido, los estudios con estos fármacos se desarrollan "in vitro", utilizando piel de rata desnuda como membrana de permeación, mediante una metódica apropiada para estos fines, siendo básica la información que se obtiene para formular en forma de *SAT* aquellos fármacos que el estudio demuestre que son candidatos a ser administrados por vía transdérmica.

Otro objetivo que se pretende alcanzar con los trabajos experimentales realizados en la presente Memoria, es comprobar si sustancias que aumentan la capacidad de penetración de los fármacos a través de la piel, mejoran los parámetros de permeación de los fármacos de la serie estudiada que han resultado ser los candidatos óptimos para ser formulados en forma de *SAT*.

La serie de fármacos ensayada (nifedipino, nimodipino, nitrendipino, felodipino y nicardipino) ha sido seleccionada, por una parte, por su profusa utilización en clínica en alteraciones patológicas cardiovasculares que configuran un grupo amplio de riesgo poblacional, administrados en formas farmacéuticas convencionales, durante largos períodos de tiempo. Por otra parte, la elección de esta serie de fármacos, se basa en que poseen una actividad farmacológica intrínseca elevada, presentan una semivida de eliminación relativamente corta y son marcadamente lipófilos, condiciones, que a priori, permiten ser considerados como candidatos a ser formulados en forma de *SAT*.

En otro orden de cosas, el interés del trabajo desarrollado en la presente Memoria, se centra en el hecho de realizar un estudio comparativo acerca de la penetración transdérmica de una serie de fármacos que configuran un grupo farmacológico definido.

A fin de cumplimentar los objetivos que se persiguen en la presente Memoria, el plan de trabajo que se ha seguido, se detalla a continuación:

## Objetivos del estudio

---

- 1º) Puesta a punto de las metódicas analíticas por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) para cada uno de los fármacos sometidos a estudio.
- 2º) Determinación de los parámetros fisicoquímicos intimamente relacionados con la capacidad de penetración de los fármacos ensayados (solubilidad en el vehículo, y coeficiente de reparto octanol-agua).
- 3º) Estimación de los parámetros de permeación cutánea de los fármacos ensayados, constante de permeabilidad ( $K_p$ ), flujo ( $J$ ) y período de latencia ( $T_l$ ), utilizando células de Franz y piel de rata desnuda como membrana de permeación.
- 4º) Intento de establecer correlación entre parámetros de permeabilidad (constante de permeabilidad y flujo) y parámetros fisicoquímicos de lipofilia (coeficiente de reparto).
- 5º) Predicción, en base de los resultados obtenidos y de las características farmacocinéticas de los fármacos sometidos a estudio, de las concentraciones plasmáticas en estado de equilibrio estacionario tras su administración en forma de *SAT* en unas condiciones preestablecidas.
- 6º) Influencia de sustancias promotoras de la penetración cutánea previamente seleccionadas (azona, d-limoneno y miristato de isopropilo) en el paso a través de la piel de los fármacos considerados como candidatos a ser formulados en forma de *SAT*, tanto desde un punto de vista de mejora de los parámetros de permeación como de predicción de sus concentraciones plasmáticas en estado de equilibrio estacionario.
- 7º) Discusión de los resultados obtenidos y conclusiones más relevantes del trabajo realizado.

### III.- ANTECEDENTES

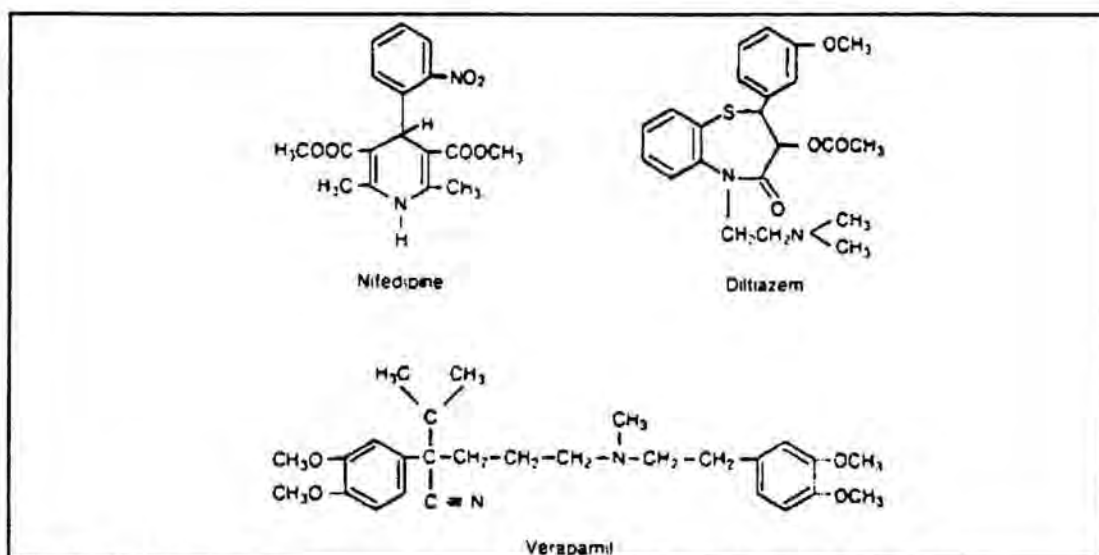
#### 1. Introducción

El valor terapéutico de los antagonistas del calcio data de 1962 cuando Hass y Hartfelder publicaron que un fármaco vasodilatador coronario, el verapamil, poseía efectos inotrópicos y cronotrópicos negativos, hecho que no se había constatado con otros vasodilatadores similares a la nitroglicerina (1). Fleckenstein sugirió en 1967 (2) que el mecanismo de acción de dicha molécula estaba relacionado con la inhibición del movimiento del calcio hacia las células con la resultante inhibición del acople excitación-contracción. Por ello Fleckenstein denominó a estos agentes antagonistas del calcio. Probablemente la denominación más acertada sería la de agentes bloqueadores de los canales del calcio ya que dichos fármacos no antagonizan los efectos del calcio si no que inhiben la entrada del calcio en las células o su movilización desde depósitos intracelulares.

El desarrollo de los antagonistas del calcio condujo en sus primeras épocas a la aparición de tres fármacos: verapamil, diltiazem y nifedipina que poseen estructuras químicas completamente distintas tal como se detalla en la figura III.1. Dichos compuestos poseen un espectro de actividad farmacológico también diferenciado pero comparten una propiedad en común, el bloqueo de los canales lentos del calcio.

Se han propuesto varias clasificaciones de los antagonistas del calcio, en nuestro caso y con la finalidad de simplificar hemos adoptado la clasificación de Singh (3) que distinguen a los antagonistas del calcio de tipo I y los del tipo II. Los primeros incluyen al verapamil, al diltiazem y sus análogos estructurales mientras que los segundos incluyen al grupo de las dihidropiridinas es decir a la nifedipina y sus análogos estructurales.

Los fármacos utilizados en la preente Memoria corresponden pues a los bloqueantes de los canales del calcio de tipo II y a continuación pasaremos a revisar brevemente en este capítulo sus aspectos estructurales, farmacológicos,



**Figura III.1.- Estructuras químicas de verapamil, diltiazem y nifedipina.**

farmacocinéticos y clínicos que consideramos de mayor relevancia.

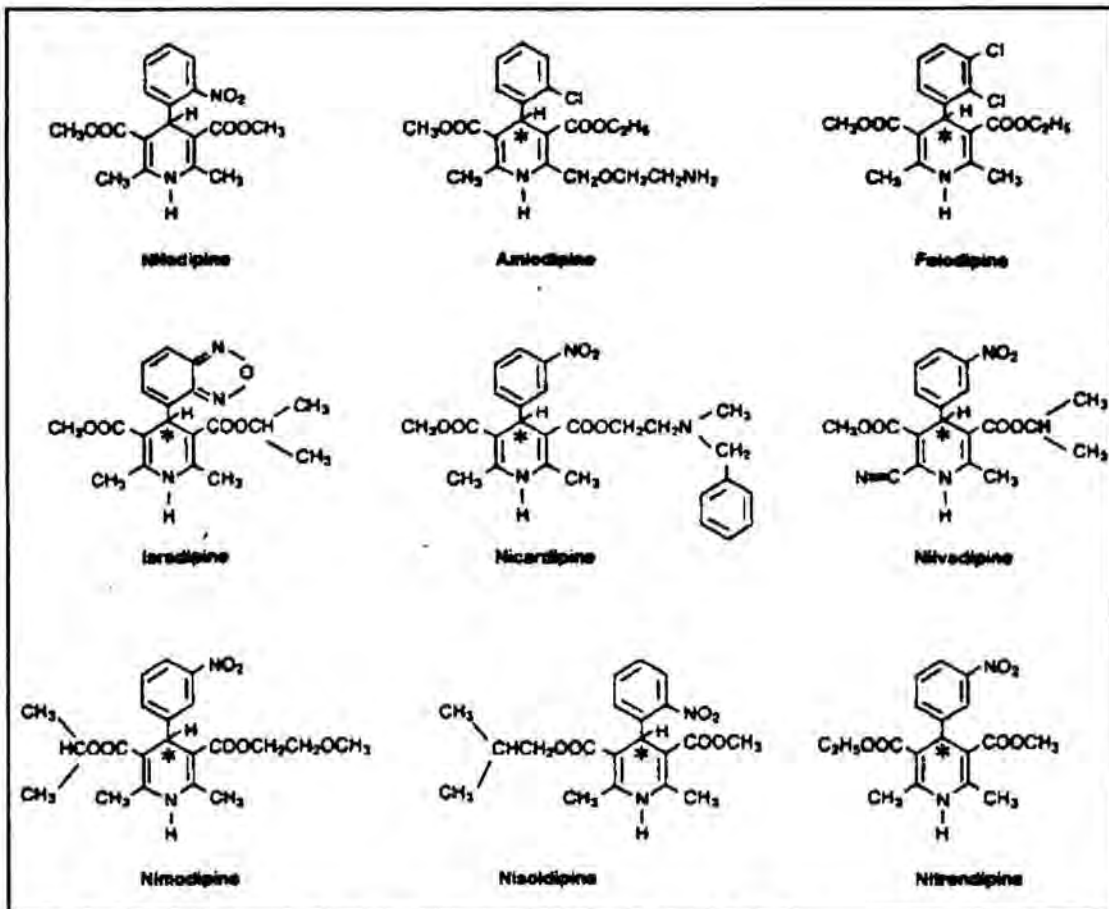
## 2. Aspectos estructurales

Los fármacos utilizados en la presente Memoria: nifedipino, nicardipino, nimodipino, nitrendipino y felodipino pertenecen todos ellos al grupo de las dihidropiridinas. La estructura química desarrollada de dichos compuestos se detalla en la figura III.2

Como ya se ha comentado anteriormente, la primera dihidropiridina que demostró su eficacia terapéutica fue la nifedipina, los otros fármacos estructuralmente relacionados con la nifedipina se han desarrollado con la finalidad de mejorar algunos aspectos de dicho fármaco entre los que destacamos los siguientes: una mayor selectividad vascular, un menor efecto depresor del miocardio, una mayor flexibilidad para el establecimiento de regímenes posológicos y una mejora en el espectro de efectos secundarios.

## 3. Aspectos farmacológicos.

Los diferentes tipos de canales de calcio existentes se han clasificado de acuerdo con sus propiedades fisiológicas (4). Los canales de calcio activados



**Figura III.2.-** Estructuras químicas desarrolladas del grupo de dihidropiridinas estudiado.

por bajo voltaje o tipo T se activan con potenciales de membrana relativamente negativos, poseen una conductancia pequeña de canal único y mediatizan una corriente transitoria de calcio que es importante para determinar la frecuencia de generación en neuronas y en células del músculo cardíaco. Los canales de calcio activados por alto voltaje requieren un potencial de membrana positivo para su activación e incluyen los canales tipo L, N y P. Los canales tipo N y P se inactivan con potenciales de membrana mas positivos que  $-40$  mV y poseen una conductancia de canal único intermedia entre la de los canales tipo T y L. Dichos canales N y P están presentes principalmente en neuronas donde juegan un importante papel en la liberación de los neurotransmisores. Los canales de tipo L no se inactivan de forma importante con despolarizaciones de hasta  $-40$  mV, poseen la mayor conductancia de canal único con relacion al resto de los canales de calcio voltaje dependiente y poseen mecanismos de inactivación dependiente de bajo voltaje y dependiente de la concentración de calcio.

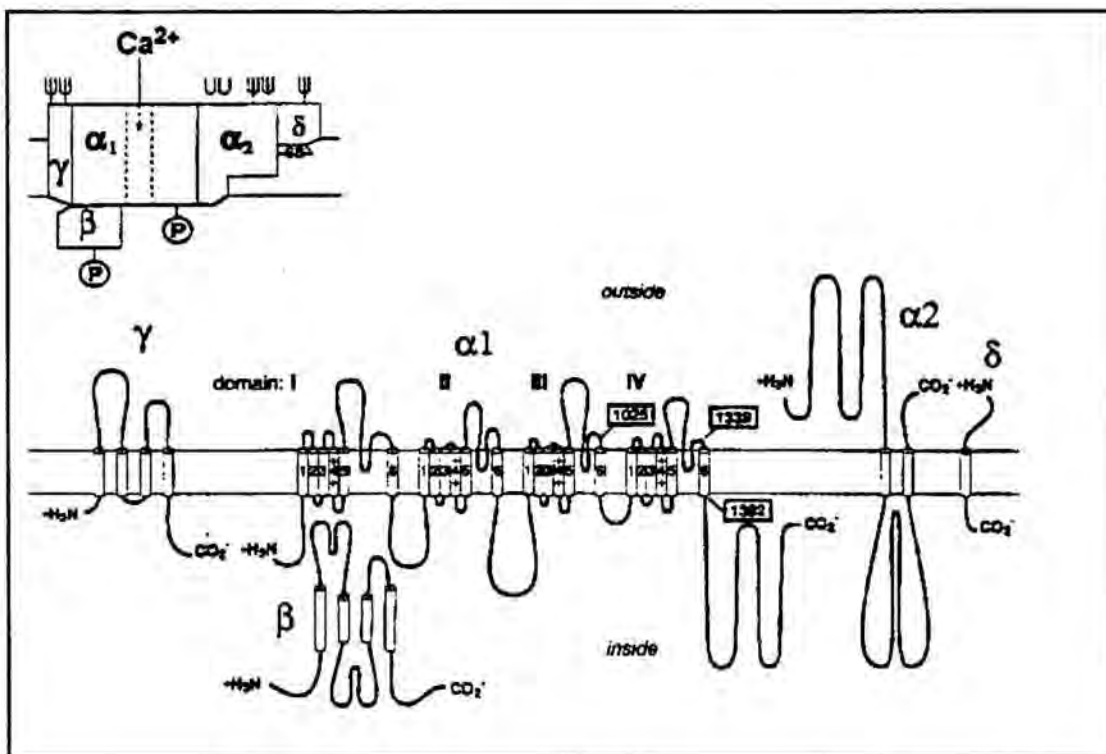
Los canales de calcio tipo L constituyen el tipo principal predominante en las células musculares y son los responsables del movimiento de entrada de calcio que inicia las contracciones de las células musculares lisas y cardíacas. Dichos canales tipo L constituyen los canales diana para las acciones de los fármacos antagonistas del calcio útiles en terapéutica(5).

Las dihidropiridinas son los principales moduladores de los canales del calcio voltaje dependientes tipo L. Estos compuestos pueden actuar como activadores o como inhibidores de dichos canales y los pares de compuestos enantioméricos amenudo presentan acciones opuestas respecto a la función del canal (6). La fijación de las dihidropiridinas a los canales del calcio tipo T no esta fuertemente influenciada por la activación repetitiva del canal, este hecho indica que la dihidropiridinas no se fijan preferencialmente en el estado abierto del canal. Sin embargo la inhibición del canal del calcio por las dihidropiridinas se potencia por una depolarización prolongada. Estos hechos son indicativos de que las dihidropiridinas se fijan con alta afinidad a los canales del calcio inactivados (1). Las dihidropiridinas se fijan a sus receptores específicos que se hallan en la superficie extracelular del canal del calcio, dicho receptor se halla en la región hidrofóbica del canal del calcio cerca de la superficie exterior de la membrana.

La estructura de los canales de calcio tipo L se representan en la figura III.3 en la que se puede apreciar que dichos canales constituyen un complejo proteico formado por 5 subunidades, para profundizar en el conocimiento de la constitución de estas subunidades así como en la teoría de que las dihidropiridinas podrían ser consideradas como moduladores alostéricos de los canales de calcio tipo L se recomienda la excelente revisión de Catterall y Striessnig (5).

### **3.1. Propiedades farmacodinámicas**

En la descripción de las propiedades farmacodinémicas de las dihidropiridinas cabe considerar las acciones sobre el tejido vascular, las acciones ejercidas sobre las células cardíacas y por último los efectos hemodinámicos.



**Figura III.3.-** Modelo estructural de canal del calcio tipo L de músculo esquelético.

### 3.1.1. Acciones sobre el tejido vascular

La despolarización en el músculo liso vascular depende fundamentalmente de la entrada de calcio y la contracción del músculo liso vascular esta regulada por la concentración citoplasmática de calcio. Existen dos mecanismos involucrados en la contracción en células de músculo liso vascular: **el acople electromecánico**, mediado por canales sensibles al voltaje que se abren por respuesta a la despolarización de la membrana, y **el acople farmacomecánico** que involucra una contracción inducida por agonistas que ocurre sin despolarización de la membrana.

Un incremento en la concentración citosólica de calcio conlleva una mayor unión de calcio a la calmodulina, el complejo calcio-calmodulina activa la miosina-quinasa de cadena ligera, con la resultante fosforilación de la cadena ligera de la miosina. Esta fosforilación promueve la interacción entre la actina y la miosina y la contracción del músculo liso. Los bloqueadores de los canales del calcio interfieren la movilización del calcio, reducen el aumento

de calcio intracelular que ocurre por cualquier mecanismo. Estos agentes bloquean los canales del calcio voltaje dependientes en el músculo liso vascular a concentraciones significativamente menores que las necesarias para interferir con el mecanismo mediado por receptores. Los antagonistas del calcio relajan el músculo liso arterial(1).

El grupo de las dihidropiridinas consideradas posee en general actividad vasodilatadora. Se ha descrito que la nicardipino y nifedipino poseen actividad vasodilatadora arterial comparable determinada tanto in vitro como in vivo asimismo poseen también actividad vasodilatadora de las arterias coronarias comparable (7,8).

Se ha puesto de manifiesto que existen diferencias notables en cuanto a la potencia como vasodilatadores periféricos entre el grupo de dihidropiridinas considerado y en este sentido, el nitrendipino, antagonista del calcio con un espectro farmacológico muy parecido al nifedipino, posee una potencia superior a este último como vasodilatador periférico (9). Además de las posibles diferencias observadas en cuanto a potencia vasodilatadora, se han descrito también la existencia de diferencias notables en cuanto a la selectividad vasodilatadora, es decir a la actividad vasodilatadora predominante sobre determinados vasos, así se ha demostrado que el nimodipino posee una actividad vasodilatadora de las arterias cerebrales mucho más potente que el resto de las dihidropiridinas estudiadas (10) y se ha descrito para el felodipino una especial actividad vasodilatadora para la vena porta (11), que nifedipino, nicardipino y felodipino poseen selectividad vascular sobre arterias coronarias y periféricas mientras que el nitrendipino no posee selectividad vascular sobre las arterias coronarias (12).

### **3.1.2. Acciones en las células cardíacas**

Los mecanismos involucrados en el acople excitación contracción en el corazón difieren de los del músculo liso vascular. La depolarización de la membrana en el tejido de conducción auricular y ventricular y en miocitos de aurículas y ventrículos se produce como resultado de dos corrientes hacia adentro, una transportada por sodio a través de los canales rápidos y otra transportada por calcio a través de los canales lentos (1). En los nódulos

sinusal y atrioventricular (A-V), la despolarización depende ampliamente del movimiento del calcio a través de los canales lentos. El bloqueo de los canales lentos por medio de los antagonistas del calcio puede dar como resultado un efecto inotrópico negativo. A diferencia de los otros antagonistas del calcio como diltiazem y verapamil las dihidropiridinas poseen muy poco efecto inhibitor de la conducción de los nódulos sinusal y A-V a dosis terapéuticas. El nifedipino ha mostrado en estudios "in vitro" y en el animal de experimentación un cierto efecto inotrópico negativo, efecto no observado en las otras dihidropiridinas; sin embargo dicho efecto raramente se ha observado en clínica.

### 3.1.3 Efectos hemodinámicos

Los principales efectos hemodinámicos de las dihidropiridinas pueden generalizarse en los siguientes: Vasodilatación arterial coronaria, disminución de la resistencia sistémica, aumento del gasto cardíaco, incremento del flujo coronario, aumento de la frecuencia cardíaca, incremento del volumen de eyección y disminución de la presión arterial.

Se ha descrito que la nifedipina reduce la presión arterial media tanto en reposo como en ejercicio como mínimo en un 20 % (13) e incrementa la frecuencia cardíaca tras administración sublingual de hasta un 28 %, la administración oral de nifedipina en cápsulas no indujo incremento de la frecuencia cardíaca mientras que si se observa tras la administración de comprimidos a las dosis de 20 y 60 mg. También se presenta un incremento de la frecuencia cardíaca tras la administración intravenosa. Estos hechos son indicativos de que determinados efectos hemodinámicos pueden depender de la vía de administración y de la forma de dosificación (7).

El nifedipino incrementa el flujo coronario en pacientes con enfermedad arterial coronaria debido a una dilatación de las coronarias asociada a un descenso de la resistencia vascular coronaria. El nifedipino posee un efecto cardioprotector y actividad antianginosa (7).

El nicardipino es un potente vasodilatador arterial sistémico y coronario. Una infusión intravenosa de este fármaco para producir un descenso de 10 a

20 mmHg la presión sistólica produjo un incremento de un 20 % del gasto cardíaco y del volumen de eyección, la resistencia periférica disminuyó en un 38 %. El flujo coronario aumentó en un 44 % (14). La captación miocárdica de oxígeno no se modificó por el tratamiento con nicardipino (15) mientras que el nicardipino mejora el metabolismo aeróbico durante la isquemia e incrementa la función diastólica en pacientes con enfermedad isquémica (16).

El nitrendipino disminuye la presión arterial, aumenta el índice cardíaco, la frecuencia cardíaca y la velocidad de eyección del ventrículo izquierdo mientras que disminuye la resistencia vascular periférica en un 29 %. La magnitud y duración de los efectos hemodinámicos comentados son superiores a la nifedipina (17).

Los efectos hemodinámicos del felodipino en se determinaron en pacientes con enfermedad arterial coronaria observándose un descenso promedio de la presión arterial media de un 16 %, un incremento en la frecuencia cardíaca de un 16 %, un incremento en el índice cardíaco de un 35 % . La resistencia vascular coronaria disminuyó en un mismo grado que la sistémica (en un 38 %). Debido al efecto brusco que ejerce sobre la presión arterial y/o a la marcada taquicardia refleja puede limitar la perfusión coronaria en situaciones de isquemia (18).

El nimodipino presenta un espectro de acción particular basado en la especial selectividad que presenta dicho fármaco por los vasos cerebrales. In vivo , en el mandril, el nimodipino ha mostrado que incrementa el flujo cerebral en un 20 a 30 % sin modificar el metabolismo oxidativo cerebral ni la presión sistémica (19). Resultados similares se observaron en el conejo y en la rata. Debido a esta selectividad por los vasos cerebrales que presenta el nimodipino, dicho fármaco se ha estudiado en toda una serie de modelos animales con isquemia cerebrovascular y hemorragia subaracnoidea. El nimodipino disminuyó el tamaño de infartos cerebrales cuando se administró antes de la oclusión (20). En la hemorragia subaracnoidea experimental, el nimodipino indujo la desaparición completa del vasospasmo en gatos y perros (21,22).

#### 4. Aspectos farmacocinéticos

##### Consideraciones generales

El grupo de las dihidropiridinas, como se ha comentado en otros apartados de este Capítulo, se ha desarrollado notablemente a partir de tres sustancias tomadas como prototipo: nifedipina, diltiazem y verapamilo. Los nuevos agentes, a nivel estructural, están relacionados con el nifedipino, sin embargo poseen una semivida de eliminación más larga, hecho que permite para las nuevas dihidropiridinas la posibilidad de ser administradas dos veces al día. Dentro de las nuevas dihidropiridinas, el amlodipino es una excepción, pues presenta una semivida de eliminación muy larga, concretamente de 30 horas, no obstante, aparte de la velocidad de eliminación, las características farmacocinéticas de las nuevas dihidropiridinas son muy semejantes. Poseen un alto aclaramiento plasmático y presentan una unión relativamente alta a las proteínas plasmáticas, por otra parte, estas sustancias sufren un significativo efecto de primer paso a nivel hepático que representa en pacientes con funcionalismo hepático disminuido un aumento de las concentraciones plasmáticas de fármaco administrados a las mismas dosis. La excreción renal de fármaco intacto es pequeña, por este motivo, las posibles alteraciones renales no afectan a la eliminación renal de fármaco. Para muchas de estas nuevas dihidropiridinas se ha descrito la relación entre las concentraciones plasmáticas y la respuesta farmacológica que producen. Estos fármacos afectan al flujo sanguíneo hepático y a su capacidad metabólica; debido a ello, las dihidropiridinas son potenciales candidatos a producir interacciones con otros fármacos a nivel de metabolismo.

##### **Relaciones entre la dosis, las concentraciones plasmáticas y los efectos farmacológicos.**

Las concentraciones plasmáticas de los nuevos antagonistas del calcio tienden a ser bajas respecto a las que se obtienen con los fármacos prototipo: nifedipina, diltiazem y verapamilo. Algunos de estos nuevos agentes presentan concentraciones plasmáticas menores de  $10\mu\text{g/l}$  lo que dificulta los estudios farmacocinéticos debido a las limitaciones de detección a esta

## Antecedentes

---

concentración de las metodías analíticas usuales. En la TABLA III.1 (23), se exponen las concentraciones plasmáticas obtenidas en un régimen de dosificación múltiple administrando dosis terapéuticas correspondientes a distintos antagonistas del calcio (23).

**TABLA III.1.- Concentraciones plasmáticas usuales de los antagonistas del calcio.**

Fármaco	Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )
Felodipino	5-50
Nicardipino	20-200
Nifedipino	10-200
Nimodipino	< 10
Nitrendipino	5-50

Los antagonistas del calcio están sujetos a un elevado efecto de primer paso hepático y, como consecuencia, se producen considerables variaciones inter e intraindividuales en sus concentraciones plasmáticas consecutivamente a la administración de la dosis (24,25). La velocidad en el incremento de las concentraciones plasmáticas de las dihidropiridinas, puede influir en la respuesta hemodinámica de estos fármacos. De acuerdo con las experiencias realizadas, la concentración mínima efectiva del diltiazem puede considerarse que es del orden de  $100 \mu\text{g/l}$  (26) y para el nifedipino de  $15 \mu\text{g/l}$  (27).

Correlaciones entre concentraciones plasmáticas de los antagonistas del calcio y sus efectos han sido puestas de manifiesto por distintos investigadores. Para el nifedipino se han mostrado buenas correlaciones entre sus concentraciones plasmáticas y la presión sanguínea y también con los latidos del corazón (28,29). SOMOGYI (29), encontró una buena correlación para el verapamilo entre sus concentraciones plasmáticas y los cambios en el intervalo PR y MEREDITH (30) usando un modelo lineal halló una buena correlación entre las concentraciones plasmáticas de verapamilo y su efecto sobre la presión sanguínea. Sin embargo, REMME (31) no observó correlaciones entre las concentraciones plasmáticas del diltiazem y su efecto hemodinámico, por el contrario, CREMER (32) encontró una correlación

significativa para este fármaco entre sus concentraciones plasmáticas y la presión sanguínea tras su administración intravenosa. Para el felodipino se ha encontrado una correlación lineal entre el logaritmo de sus concentraciones plasmáticas y cambios en la presión distólica en un ámbito de concentraciones comprendido entre 2 y 20  $\mu\text{g/l}$  (33). ABERNETHY (34) describieron una buena correlación entre las concentraciones plasmáticas del amlodipino y los cambios de la presión arterial media tras doce semanas de tratamiento. También COOK (35) encontró una relación significativa entre el logaritmo de las concentraciones plasmáticas de nicardipino y los cambios en la presión distólica consecutivamente a la administración intravenosa del fármaco.

En general, puede concluirse, que los descensos de la presión sanguínea observados tras la administración de los antagonistas del calcio, está relacionada con sus concentraciones plasmáticas y que esta relación puede hacerse extensiva a otros parámetros hemodinámicos.

#### **Características farmacocinéticas.**

Es bien conocido que la estructura química de los antagonistas del calcio es distinta así como, que las modificaciones que producen en el flujo del calcio y en las distintas propiedades secundarias, tienen mucho en común con sus características farmacocinéticas (36).

El nifedipino, diltiazem y verapamilo son casi completamente absorbidos tras su administración oral. Sin embargo, están sujetos a un elevado efecto de primer paso en el hígado, hecho que tiene como resultado que estos fármacos presenten una baja y variable biodisponibilidad. Así, por ejemplo, se ha publicado (23) valores para este parámetro comprendidos entre un 50% y 60% para el nifedipino, del 40% para el diltiazem y del 20 al 30% para el verapamilo. En general, la biodisponibilidad de los antagonistas del calcio es baja y está comprendida entre un 10 y un 40%.

El incremento de dosis de los antagonistas del calcio, está asociado a un aumento en los valores del área bajo la curva concentración plasmática/tiempo (AUC) y en los valores de la concentración máxima

( $C_{max}$ ). Sin embargo, esta relación puede cumplirse tras la administración de dosis única y no presentarse en un régimen de dosis múltiple (37,38) e incluso, puede no cumplirse la referida relación cuando se utilizan distintas formulaciones (39).

El ya comentado efecto de primer paso que sufren estos fármacos, puede verse reflejado en un comportamiento no lineal entre las dosis administradas y las concentraciones plasmáticas obtenidas, no obstante, en la mayoría de los casos estudiados se presenta linealidad. Cuando se observa un comportamiento no lineal, puede ser debido a que el fármaco en cuestión posea un bajo aclaramiento plasmático, como es el caso del amlodipino (40). Para muchos antagonistas del calcio se ha comprobado que presentan un comportamiento farmacocinético lineal, por ejemplo, para el nitrendipino (en un régimen de dosis múltiple, pero no tras la administración de una dosis única) (38), para el felodipino (41) y para el nifedipino (42).

Se ha descrito que la unión a las proteínas plasmáticas para el nifedipino, diltiazem y verapamilo es alta, alrededor del 90% o superior, siendo prácticamente nula la cantidad de fármaco intacto eliminado por orina. En general, todos los antagonistas del calcio presentan una elevada unión a las proteínas plasmáticas, por encima del 90%. Para estos tres fármacos la semivida de eliminación es corta, presentando valores de  $t_{1/2}$  comprendidos entre 3 y 6 horas, influyendo en estos valores la formulación utilizada (43).

En la TABLA III.2 (23), se muestran los valores de los principales de los parámetros farmacocinéticos correspondientes a los principales antagonistas del calcio. En relación a los valores de estos parámetros, puede comentarse que, el aclaramiento plasmático (Cl) es similar para todos estos fármacos, con valores comprendidos entre 0.5 y 1 l/h/kg, sin embargo para el nimodipino se han hallado valores más altos. El volumen de distribución (Vd) de estos fármacos presenta grandes variaciones desde 102 l/kg para el nifedipino y el nimodipino a 21.4 l/kg para el amlodipino. La semivida en fase  $\beta$  del nimodipino ( $t_{1/2\beta}$ ) es baja, aproximadamente de una hora, para el resto de antagonistas del calcio es más alta y su valor está comprendido entre 8 y 16 h. Una excepción es la semivida en fase beta hallada para el amlodipino que, voluntarios sanos, resultó ser de 34 h.

Teniendo en cuenta que, los antagonistas del calcio presentan una buena correlación entre sus concentraciones plasmáticas y los efectos farmacológicos, de acuerdo con sus características farmacocinéticas, estos fármacos son susceptibles de administrarse dos veces al día para obtener una óptima respuesta terapéutica. Como excepción a esta regla, puede citarse, al amlodipino que debido a su larga semivida en fase beta, puede administrarse una vez al día y, al nimodipino, que es necesario administrarse 3 o 4 veces al día.

**Tabla III.2.-** *Parámetros farmacocinéticos representativos de los antagonistas del calcio. Para algunos de ellos se pueden encontrar considerables variaciones en los parámetros farmacocinéticos encontrados en publicaciones científicas. El volumen de distribución (Vd) y el aclaramiento total se han normalizado para un peso corporal de 70 Kg con fines comparativos.*

Fármaco	Vd (l/Kg)	CL (l/Kg/h)	t <sub>1/2B</sub> (h)	F (%)	PB
Felodipino	9.7	0.70	10.2	16	>99
Nicardipino	6.8	0.43	11.5	15-40 <sup>a</sup>	98-99.5
Nifedipino	13	0.53	3.4	45	96-98
Nimodipino	1.7	1.77	0.9	11.6	98
Nitrendipino	5.4	1.12	8.6	16	98

<sup>a</sup> *Varia con la dosis*

### **Farmacocinética de los antagonistas del calcio en ancianos.**

La edad está íntimamente asociada a cambios fisiológicos que repercuten directamente en las características farmacocinéticas de los fármacos. Los cambios más relevantes que se producen en los antagonistas del calcio en función de la edad, están centrados en el flujo sanguíneo hepático, en la velocidad de filtración glomerular, en la actividad y/o cantidad de enzimas microsomiales hepáticos y en la disminución de la masa corporal (44). Los cambios que se producen en las características farmacocinéticas de los

antagonistas del calcio con la edad, están asociados a una reducción del flujo hepático que se traduce en un incremento de  $C_{max}$ , AUC y un descenso en el aclaramiento plasmático. Se asume que estos cambios son consecuencia de que con la edad disminuye el efecto de primer paso a nivel hepático. Por ejemplo, se compararon las características farmacocinéticas del nifedipino administrado por vía oral e intravenosa en voluntarios sanos y en ancianos (45). Los valores de  $C_{max}$ , AUC y de biodisponibilidad fueron más altos en ancianos que en los voluntarios y, el aclaramiento plasmático promedio obtenido para las personas de mayor edad fue un 64% del valor obtenido en personas jóvenes, sin embargo, el volumen de distribución no presentó cambios. Para el verapamilo, el aclaramiento plasmático se reduce, la semivida de eliminación se incrementa y las concentraciones plasmáticas también son más altas en la población anciana (46).

Consecutivamente a la administración oral del nitrendipino, los valores de AUC, semivida de eliminación y  $C_{max}$  se incrementaron considerablemente en pacientes ancianos (>65 años) respecto a pacientes con edad media comprendida entre 21 y 35 años (47). BAKSI (48), comparó las características farmacocinéticas del nisoldipino en 9 voluntarios jóvenes y 12 ancianos tras la administración de una dosis única de 10 mg y después de administrar siete dosis. Las concentraciones plasmáticas fueron más altas en los voluntarios ancianos siendo para esta población los valores de AUC aproximadamente el doble. Estas consideraciones son indicativas de considerar las dosis a administrar a la población anciana de los antagonistas del calcio respecto a las utilizadas en la población joven.

### **Farmacocinética de los antagonistas del calcio en distintas patologías.**

#### **Alteraciones renales**

En el caso de los antagonistas del calcio, la eliminación a través de la orina de fármaco inalterado se produce en muy poca cantidad. El alto aclaramiento hepático que sufren estos fármacos, es el responsable de que las alteraciones en la función renal tengan poca influencia en las concentraciones plasmáticas o en la velocidad de eliminación de estas sustancias. Sin embargo, las alteraciones renales pueden influir en el

descenso de la velocidad de eliminación de metabolitos polares de estos fármacos presentes en la circulación sistémica. La mayoría de estudios realizados con el diltiazem, el verapamilo o el nifedipino (49,50,51), han puesto de manifiesto, que las alteraciones renales no producen cambios en las características farmacocinéticas de estos fármacos.

MATRE (52) encontró que en estados de alteración renal avanzada y de hemodiálisis, las características farmacocinéticas del nifedipino no se ven alteradas. La unión a las proteínas plasmáticas decrece hasta alrededor del 94 al 89% en pacientes urémicos pero no se normaliza por hemodiálisis, sugiriendo que el inhibidor urémico dializable no fue el causante de este descenso en la unión a las proteínas plasmáticas.

Muchas de éstas nuevas dihidropiridinas han sido estudiadas en lo que respecta a su comportamiento farmacocinético en alteraciones renales. La velocidad de eliminación del amlodipino (53), felodipino (54), isradipino (55) y disoldipino (56) no sufre variaciones en pacientes con alteración renal. No obstante, se ha publicado que en situaciones con alteraciones renales avanzadas, los antagonistas del calcio producen valores para  $C_{max}$  y AUC más elevados y valores para el aclaramiento plasmático (Cl) más reducidos respecto a los que se obtienen en pacientes con el funcionalismo renal normal. Por este motivo, se recomienda reducir las dosis en pacientes con el funcionalismo renal comprometido (57).

### **Alteraciones hepáticas.**

Debido a que los antagonistas del calcio sufren un elevado efecto de primer paso a nivel del hígado en situaciones con el funcionalismo hepático alterado, se reduce el flujo sanguíneo hepático así como el funcionalismo de la glándula y, como consecuencia, se modifican las características farmacocinéticas de estos fármacos. Los parámetros farmacocinéticos más afectados son el valor de  $C_{max}$  que aumenta, el aclaramiento plasmático que disminuye y la biodisponibilidad que también aumenta.

ECHIZEN (36) publicó que consecutivamente a la administración intravenosa de nifedipino en pacientes con cirrosis hepática, la semivida de eliminación del fármaco aumentaba (pasando de 2 a 7 horas), el aclaramiento plasmático descendía a la mitad y el volumen de distribución

aumentaba. Tras la administración oral del nifedipino, se obtuvo para este fármaco un valor doble de su biodisponibilidad. En el caso del verapamilo, consecutivamente a su administración intravenosa, las concentraciones plasmáticas son mucho más altas en pacientes cirróticos, el volumen de distribución (Vd) aumenta el doble y el aclaramiento plasmático (Cl) se reduce a la mitad, incrementándose cuatro veces el valor de la semivida correspondiente a la fase terminal de la curva de niveles plasmáticos. Tras la administración del fármaco por vía oral su biodisponibilidad aumenta un 52% (58).

KUROSAWA (59) estudió la farmacocinética del diltiazem y de sus metabolitos desacetil y demetiltiazem en siete voluntarios sanos y siete pacientes con cirrosis hepática tras la administración de 30 a 60 mg tres veces al día durante un periodo largo de tiempo. En la absorción del diltiazem no se producen cambios, pero la eliminación del fármaco disminuye. Las concentraciones plasmáticas del diltiazem y del desacetilmetabolito aumentan, sin embargo, las concentraciones del demetiltiazem disminuyen. Los efectos sobre la farmacocinética del diltiazem en pacientes con alteraciones hepáticas es menor que las que se observan para el verapamilo y el nifedipino.

Para el felodipino el aclaramiento plasmático (Cl) y el volumen de distribución se ve reducido en las alteraciones hepáticas, sin embargo, cuando el aclaramiento del felodipino en alteraciones hepáticas es una tercera parte de su valor normal, la biodisponibilidad del fármaco no se altera. Estos resultados sugieren que el metabolismo del felodipino se realiza tanto a nivel hepático como a nivel de las células columnares del intestino delgado (60).

Los estudios realizados con nicardipino, ponen de manifiesto que, en estados cirróticos, sus concentraciones plasmáticas son sustancialmente más altas y la semivida de eliminación mucho más prolongada (1-4 horas en voluntarios sanos y 11.7 horas en pacientes cirróticos); por el contrario, las concentraciones de los metabolitos del nicardipino son más bajas (61). El nimodipino también sufre alteraciones en sus parámetros farmacocinéticos cuando se administra a pacientes con alteraciones hepáticas. El área bajo la

curva se incrementa cuatro veces y el aclaramiento desciende aproximadamente un 60% (62).

Puede concluirse que, en general, las alteraciones hepáticas modifican significativamente los parámetros farmacocinéticos de los antagonistas del calcio y, en estos casos, es imprescindible un replanteamiento de la posología de estos fármacos respecto a la deducida en condiciones normales de funcionalismo hepático.

En la TABLA III.3, se resumen las variaciones de los principales parámetros farmacocinéticos de los antagonistas del calcio, en función de la edad y en presencia de alteraciones renales y hepáticas.

**TABLA III.3.-Cambios en los parámetros farmacocinéticos relacionados con la edad y enfermedades.**

Fármaco	$C_{max}$			AUC			Vd			$t_{1/2}$			CL		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Almodipino	↑	≈	↑	↑		↑				↑	≈	↑	↓	≈	
Diltiazem	↑	≈		↑		≈				↑	≈		↓	≈	↓
Felodipino	↑			↑			≈		↓	↑	≈		↓	≈	↓
Isradipino	↑	≈	↑	↑	≈	↑	≈			↑	≈			≈	
Nicardipino	↑	↑	↑	↑		↑	≈		↑			↑		↓	
Nifedipino	↑	↑	≈	↑	↑		↑	≈	↑			↑			↓
Nilvadipino															
Nimodipino		↑	≈				↑			↑			↓		
Nisoldipino	↑	≈		↑	≈	↑				↑	≈	↑		≈	↓
Nitrendipino	↑		↑	↑	↑	≈	↑			≈	↑	≈	↑	≈	↓
Verapamilo	↑		↑				↑			↑	↑		↑	↓	↓

(A) Edad; (B) Alteración renal; (C) alteración hepática.

$C_{max}$  concentración máxima plasmática, AUC area bajo la curva de niveles plasmáticos,  $V_d$  volumen de distribución.

### III.5. Propiedades terapéuticas

El papel de los antagonistas del calcio en terapéutica es relevante. En general sus principales propiedades terapéuticas son la antianginosa e hipotensora. Sin embargo las indicaciones clínicas del grupo de dihidropiridinas estudiado no puede en absoluto generalizarse ya que depende del perfil farmacológico diferenciado de cada uno de sus componentes. En este sentido la tabla III.4 resume las principales características clinico-farmacológicas del grupo de dihidropiridinas estudiado, dicha tabla ha sido adaptada de la revisión publicada por Freedman y Waters (12).

**TABLA III.4.- Principales características farmacológicas de los antagonistas del calcio de la familia de las dihidropiridinas.**

Características	Nifedipino	Nisoldipina	Nicardipino	Nimodipino	Felodipino	Nitrendipino
Semivida de eliminación	2	2-3	2	?	14	12
Duración del efecto	4	8-10	8	?	20	12
Selectividad vascular	Coronaria y arterial periférica	Coronaria y arterial periférica	Coronaria y arterial periférica	Cerebral	Coronaria y arterial periférica	Arterial periférica
Efecto en la resistencia periférica	↓↓	↓↓↓	↓↓		↓↓	↓↓
Efecto en el ritmo cardiaco	Reflejo ↑	Reflejo ↑	Reflejo ↑		Reflejo ↑	Reflejo ↑
Efecto sobre la contractilidad del miocardio	↓	? ninguno	? ninguno	ninguno	Minimo ↓	? ninguno
Dosis usual (mg)	10-20 (3)	10-20 (3)	30 (3)	30 (3)	10 (1 o 2)	20 (1 o 2)
Indicaciones mas comunes	Angina, hipertens.	Angina, hipertens.	Angina, hipertens.	Migraña, hemorragia subarac.	Hipertensión, fallo cardiaco	Hipertensión

a) La semivida de eliminación puede estar influenciada por la ruta de administración o puede ser dosis dependiente. Los valores reseñados pueden ser imprecisos debido a métodos analíticos inadecuados. La duración de los efectos farmacológicos puede sobrepasar la semivida debido a la presencia de metabolitos activos.

De la observación de la TABLA III.4 se desprende que las principales indicaciones clínicas de las dihidropiridinas estudiadas dependen en buena parte de la selectividad vascular de las mismas.

### **5.1. Actividad antianginosa**

Tanto nifedipino como nicardipino han demostrado una eficaz actividad antianginosa.

El nifedipino ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la angina estable inducida por ejercicio (63), los ensayos clínicos en esta indicación han puesto de manifiesto diferencias relevantes entre la eficacia del nifedipino frente a fármacos alternativos de primera elección como los betabloqueantes (64). Aproximadamente un 80 % de los pacientes con angina de Prinzmetal observaron una reducción de un 50 % en la frecuencia de sus ataques (65). Ensayos abiertos con pacientes afectados de angina inestable refractaria a tratamientos convencionales han puesto de manifiesto que con nifedipino se obtiene una respuesta favorable entre el 47 al 89 % de los pacientes (66).

El nicardipino es un fármaco eficaz para el tratamiento de la angina crónica estable utilizado en monoterapia(67). Se ha demostrado que el nicardipino es igualmente eficaz que el nifedipino y que los betabloqueantes pero que produce menos efectos secundarios que estos últimos. El nicardipino ha demostrado su utilidad en la angina vasoespástica (68).

### **5.2. Actividad hipotensora**

Todas las dihidropiridinas estudiadas a excepción del nimodipino poseen una actividad hipotensora que las hace útiles en el tratamiento de la hipertensión esencial.

El nifedipino administrado por distintas vías ha demostrado ser relativamente seguro y efectivo para disminuir con rapidez la presión arterial en diversas situaciones clínicas como son: situaciones post-quirúrgicas, en pacientes en hemodiálisis y en crisis hipertensivas. En numerosos ensayos terapéuticos se ha puesto de manifiesto la actividad antihipertensiva del nifedipino en pacientes afectados de hipertensión leve a moderada, eficacia que se ha mantenido durante períodos prolongados de hasta 3 o 4 años. En diversos ensayos comparativos se ha puesto de manifiesto que la eficacia antihipertensiva del nifedipino es del mismo orden que la de otros antihipertensores de primera elección (7).

El nicardipino ha demostrado su utilidad en el tratamiento de la hipertensión esencial utilizado como monoterapia. La eficacia ha sido demostrada en ensayos frente a placebo así como en ensayos comparativos frente a la hidroclorotiazida y frente al propranolol en los que se puso de manifiesto la equieficacia de los tratamientos. La duración del efecto farmacológico es ligeramente superior al del nifedipino (8).

El felodipino demostró actividad antihipertensiva a las dosis de 5 a 10 mg con una buena tolerancia y una efectividad del mismo orden que el nifedipino en pacientes refractarios al tratamiento con betabloqueantes o con diuréticos (69). La utilización de felodipino en combinación con diuréticos o con betabloqueantes ha demostrado su actividad antihipertensora a dosis comprendidas entre 2.5 y 10 mg (70). Además de la hipertensión esencial, el felodipino también ha demostrado eficacia en la hipertensión pulmonar (71) y en la hipertensión de origen renal (72).

El nitrendipino se ha utilizado con éxito en el tratamiento de la hipertensión arterial leve a moderada en monoterapia a dosis diarias de 10 a 20 mg (73). La eficacia antihipertensiva del nitrendipino es equivalente a la del acebutolol, oxprenolol y propranolol. El nitrendipino provee una eficacia adicional cuando se administra en combinación con betabloqueantes y diuréticos (74).

### 5.3. Hemorragia subaracnoidea

El nimodipino presenta una especial selectividad por los vasos cerebrales. El desarrollo clínico de esta molécula se ha dirigido hacia patologías instauradas a nivel del Sistema Nervioso Central.

Los pacientes que sobreviven a una hemorragia subaracnoidea están expuestos a una hemorragia recurrente y a un espasmo cerebral arterial durante las tres semanas siguientes a la hemorragia inicial. Este riesgo ocurre en el 30 % de los pacientes. El nimodipino ha demostrado prevenir parcialmente este riesgo (75). a la vez que mejora los déficits neurológicos debidos al vaosoespasmo (76).

En el transcurso de la cirugía del aneurisma, la inyección de nimodipino en el espacio subaracnoideo o su administración tópica a los vasos cerebrales ha demostrado ser efectivo revirtiendo el espasmo de las arterias cerebrales (77).

### 5.4. Migraña

El nimodipino ha demostrado su eficacia en la profilaxis de la migraña. Se ha puesto de manifiesto que el 69 % de pacientes tratados con nimodipino han experimentado una reducción de un 50 % en la frecuencia de los ataques de migraña (78). En un estudio comparativo frente a la flunarizina el nimodipino demostró una eficacia similar (79).

### Bibliografía

- 1 Murad F. en Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. pp 764-783 Pergamon Press (1990).
- 2 Fleckenstein J., Kammermeier H., Doring H., Freund H.J.: Z.Kreislaufforsch **56**:716-744 (1967).
- 3 Singh B.N.: British Journal of Clinical Pharmacology **21**:109S-121S (1986).

- 4 Tsien R.W., Ellinor P.T., Horne W.A.: *Trends Pharmacol Sci.* **12**:349-354 (1991).
- 5 Caterall W.A., Striessnig J.: *Trends in Pharmacol Sci* **13**:256-262 (1992).
- 6 Triggle D.J., Janis R.A.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **27**:347-369 (1987).
- 7 Sorkin E.M., Clissold S.P., Brogden R.N.: Nifedipine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in ischaemic heart disease, hypertensin and related cardiovascular disorders. *Drugs* **30**:182-274 (1985).
- 8 Sorkin E.M., Clissold S.P.: Nicardipine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in angina pectoris, hypertension and related cardiovascular disorders. *Drugs* **33**:296-345 (1987).
- 9 Goa K.L., Sorkin E.M.: Nitrendipine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in hypertension. *Drugs* **33**: 123-155 (1987).
- 10 Langley M.S., Sorkin E.M.: Nimodipine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in cerebrovascular disease. *Drugs* **33**: 666-699 (1989).
- 11 Saltiel E., Gray Ellrodt A., Monk J.P., Langley M.S.: Felodipine. A Review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in hypertension. *Drugs* **36**:387-428 (1988).
- 12 Freedman D.D., Waters D.D.: "Second generation" dihydropyridine calcium antagonists. Greater vascular selectivity and unique applications. *Drugs* **34**:578-598 (1987).
- 13 Bonaducce D., Ferrara N., Petretta N., Romano E., Postiglione M et al.: Hemodynamic study of nifedipine administration in hypertensive patients. *American Heart Journal* **106**:865-867 (1983).
- 14 Lambert C.R., Hill J.A., Nichols W.W., Feldman R.L., Pepine C.J.: *American Journal of Cardiology* **55**:652-656 (1985).
- 15 Jackson N.C., Silke B., Verma S.P., Reynolds G., Taylor S.H.: *Postgraduate Medical Journal* **60**:17-20 (1984).
- 16 Pouleur H., Van Eyll C., Cheron P., Gurne O., Rousseau M.F.: *Circulation* **70**:II-350 (1984).
- 17 Rutsch W., Schmutzler H.: En Csriabine et al. (Eds) Nitrendipine, pp 519-526. Urban and Schwarzenberg, Baltimore (1984).

- 18 Emanuelsson H., Hjalmarson A., Holmberg S., Waagstein F.: *European Heart Journal* 5:308-316 (1984).
- 19 Harper A.M., Craigen L., Kazda S.: *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 1:349-356 (1981).
- 20 Obana W.G., Bartkowski H.M., Cassel M.E., Nishimura M.C., Pitts L.H.: *Clinical Research* 33:69A (1985).
- 21 Tanaka K., Gotoh F., Muramatsu F., Fukuuchi Y., Okayasu H. et al.: *Arzneimittel-Forschung* 32:1529-1534 (1982).
- 22 Steen P.A., Newberg L.A., Milde J.H., Michenfelder J.D.: *Journal of Cerebrovascular Blood Flow and Metabolism* 3:38-43 (1983).
- 23 Kelly J.G., O'Malley K. "Clinical Pharmacokinetics" 22, 416-433 (1992).
- 24 Porchet H.C., Dayer P. "Clinical Pharmacology and Therapeutics" 48, 155-160 (1990)
- 25 Hoyo-Vadillo C., Castaneda G., Herrera J.E. "J. of Clinical Pharmacology" 183, 1595-1596 (1990)
- 26 Joyal M., Pieper J., Cremer K., Feldman R.L., Pepine C.J. "American Heart Journal" 111, 54-61 (1986)
- 27 Kleinbloesem C.H., Van Brummelen P., Van de Linde J.M., Voogd P.J., Breimer D.D. "Clinical Pharmacology and Therapeutics" 37,742-749 (1984b)
- 28 Aoki k., Sato K., Kawaguci Y., Yamamoto M. "European Journal of Clinical Pharmacology" 197-201 (1982)
- 29 Somogyi A., Albrecht M., Kliems G., Schafer K., Eichelbaum M. "British Journal of Clinical Pharmacology" 12, 51-60 (1981)
- 30 Meredith P.A., Elliot H.L., Ahmed J.H., Reid J.L. *J. of Hypertension* 5 (suppl. 5): S219-S221 (1987).
- 31 Remme W.J., Van Hoogenhuyze D.C.A., Hofman A, Storm C.J., Krauss X.H. et al. *European Heart J.* 8: 965-974 (1987).
- 32 Cremer K.F., Pieper J.A., Joyal M. *Clin. Pharm. Ther.* 37: 188 (1985).
- 33 Blychert E., Edgar B., Elmfeldt D., Shapiro D. *J. of Cardiovascular Pharm.* 15 (Suppl. 4): S57 (1990).
- 34 Abernethy D.R., Gutkowska J., Winterbottom L.M. *Clin. Pharm. Ther.* 48: 76-86 (1990).
- 35 Cook E., Clifton G.G., Vargas R., Bienvenu G., Williams R. et al. *Clin. Pharm. Ther.* 47:766-718 (1990).
- 36 Echizen H., Eichelbaum M. *Clin. Pharm.* 11: 425-449 (1986).
- 37 Hoglund P., Nilsson L-G. *Ther. Drug Monitoring* 11: 543-550 (1989).

- 38 Ramsch K.D., Sommer J. En Scriabne et al (Eds.) Nitrendipine, pp. 409-420, Urban and Schwarzenberg, Baltimore (1984).
- 39 Sorkin E.M., Clissold S.P., Brogden R.N. *Drugs* 30: 182-274 (1985).
- 40 Reid J.L., Meredith P.A., Donnelly R., Elliott H.L. *J. of Cardiovascular Pharm.* 12 (Suppl. 7): S22-S26 (1988).
- 41 Edgar B., Regardh C.G.,Lundborg P., Romare S., Nyberg G. et al. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 8: 253-248 (1987a).
- 42 Taburet A.M., Singlas E., Colin J-N., Banzet O., Thibonnier M. et al. *Hypertension* 5: II29-II33 (1983).
- 43 Freedman S.B., Richmond D.R., Ashley J.J., Kelly D.T. *Clin. Pharm. Ther.* 30: 644-652 (1981).
- 44 O'Malley K., Kelly J.G. En Amery and Staessen (Eds) *Handbook of hypertension: hypertension in the ederly*, Vol. 12, 186-194. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1989).
- 45 Robertson D.R.C., Walker D.G., Renwick A.G., George C.F. *British J. Clin. Pharm.* 25: 297-305 (1988).
- 46 Abernethy D.R., Schwartz J.B., Tood E.L., Luchi R., Snow E. *Annals of Internal Medicine* 105: 329-336 (1986).
- 47 Lettieri J.T., Krol G.J., Yeh S.C., Burkholder D.E., Zinny N. et al. *J. of Cardiovascular Pharm.* 12 (Suppl.4): S129-S132 (1988).
- 48 Baksi A.K., Edwards J.S., Ahr G. *British J. Clin. Pharm.* 31: 367-370 (1991).
- 49 Pozet N., Brazier J.L., Aissa A.H., Khenfer D., Faucon G. et al. *Eur. J. Clin. Pharm.* 24: 635-638 (1983).
- 50 Mooy J., Shols M., Van Baak M., Van Hoof M., Muytjens A. et al. *Eur. J. Clin. Pharm.* 28: 405-410 (1985).
- 51 Bogaert M.G., Rosseel M.T., Joos R., Boelaert J. *Arzneimittel-Forschung* 34: 307-308 (1984).
- 52 Martre H., Sari R., Taburet A.M., Jacobs C., Singlas E. *British J. Clin. Pharm.* 20: 155-158 (1985).
- 53 Laher M.S., Kelly J.G., Doyle G.D., Carmody M., Donohoe J.F. et al. *J. of Cardiovascular Pharm.* 12 (Suppl.7): S60-S63 (1988).
- 54 Larsson R., Karlberg B.E., Gelin A., Aberg J., Regardh C.E. *J. Clin. Pharm.* 30: 1020-1030 (1990).
- 55 Chandler M.H., Schran H.F., Cutler R.E., Smith A.J., Gonasun L.M. et al. *J. Clin. Pharm.* 28: 1076-1080 (1988).

- 56 Van Harten J., Van Brummelen P., Lodewijks M.ThM., Danhof M., Breimer D.D. *Clin. Pharm. Ther.* 43: 332-341 (1988b).
- 57 Ahmed J.H., Grant A.C., Rodger R.S.C., Murray G.R., Elliot H.L. *British J. Clin. Pharm.* 32: 75-62 (1991).
- 58 Somogyi A., Albrecht M., Kliems G., Schafer K., Eichelbaum M. *British J. Clin. Pharm.* 12: 51-60 (1981).
- 59 Kurosawa S., Kurosawa N., Owada E., Soeda H., Ito K. *Int. J. Clin. Pharm. Res.* 10: 311-318 (1990).
- 60 Rehnqvist N., Edgar B., Olsson R., Kendall M., Collste P. et al. *Eur. J. Clin. Pharm.* 36: 473-479 (1989).
- 61 Razak T.A., Mc Neill J.J., Sewell R.B., Drummer O.H., Smallwood Ra. et al. *Clin. Pharm. Ther.* 47: 463-469 (1990).
- 62 Gengo F.M., Fagan S.C., Krol G., Bernhard H. *British J. Clin. Pharm.* 23: 47-53 (1987).
- 63 Sherman L.G., Liang C.S.: *American Journal of Cardiology* 51:706-711 (1983).
- 64 Nelson G.I.C., Silke B., Ahuja R.C., Hussain M., Forsyth D., Taylor S.H.: *European Heart Journal* 5:67-79 (1984).
- 65 Schick E.C., Liang C.S., Heupler F.A., Kahl F.R., Kent K.M. et al.: *American Heart Journal* 104:690-697 (1982).
- 66 Hagemeyer F., van Mechelen R., Santoso T.: *Herz* 7:126-131 (1982).
- 67 Scheidt S., Le Winter M.M., Hermanovich J., Venkataraman K., Freedman D.: *American Journal of Cardiology* 58:715-721 (1986).
- 68 Gelman J.S., Feldman R.L., Scott E., Pepine C.J.: *American Journal of Cardiology* 56:232-236 (1985).
- 69 Aberg H., Lindsjo M., Morlin B.: *Drugs* 29(suppl 2):117-123 (1985).
- 70 Sluiter H.E.: *Drugs* 34 (Suppl 3):26-35 (1987).
- 71 Bratel T., Hedenstierna G., Nyquist O., Ripe E.: *European Journal of Respiratory Diseases* 67:244-253 (1985).
- 72 Hertlitz H., Bjorck S., Nyberg G., Granerus G, Aurell M.: *Drugs* 34 (Suppl 3): 151-155 (1987).
- 73 Vitacolonna E., Guagnano M.T., Capani F., Sensi S.: *Current Therapeutic Research* 39:414-420 (1986).
- 74 Oro L., Ryman T.: En Scriabine (Eds) Nitrendipine pp 527-534, Urban and Schwarzenberg, Baltimore (1984).
- 75 Allen G.S.: *American Journal of Cardiology* 55:149B-157B (1985).

## *Antecedentes*

---

- 76 Koos W.T., Perneczky A., Auer L.M., Boker D.K., Gaab M et al.: *Neurochirurgia* **28**:114-117 (1985).
- 77 Auer L.M.: *Neurochirurgia* **28**:87-92 (1985).
- 78 Gelmers H.J.: *Headache* **23**: 106-109 (1983).
- 79 Bussone G., Baldini S., D'Andrea G., Canonzi A., Fedriani F. et al.: *Headache* **27**:76-79 (1987).

## IV Material y métodos

En este epígrafe se detallan los materiales empleados en el presente trabajo así como la metodología seguida en cada una de las experiencias realizadas.

### 1. Material

Los materiales utilizados en la presente Memoria se especifican en los siguientes apartados:

#### 1.1. Fármacos

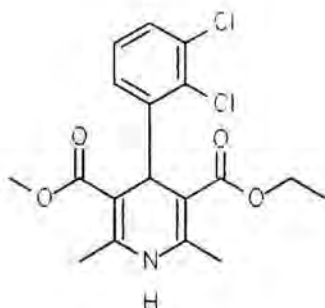
Los antagonistas del calcio empleados en la presente Memoria son: Felodipino, Nicardipino, Nifedipino, Nimodipino y Nitrendipino. Sus estructuras químicas, nombres y números de Chemical Abstracts, así como sus fórmulas moleculares y sus pesos moleculares se detallan a continuación.

Felodipino (CAS nº 72509-76-3)

*Etil metil 4-(2,3-Diclorofenil)-1,4-Dihidro-2,6-Dimetil-3,5-pirinadicarboxilato.*

$C_{18}H_{19}Cl_2NO_4$

Peso molecular 384.26



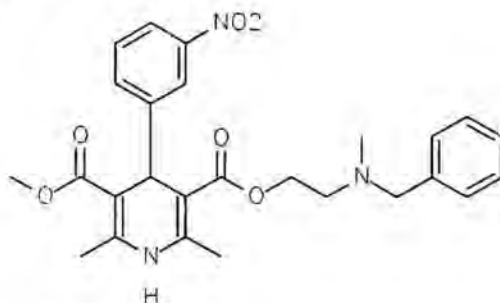
Nicardipino (CAS nº 55985-32-5)

Nicardipino (CAS nº 55985-32-5)

*Metil 2-[metil-(fenilacetil)]aminoetil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-Nitrofenil)-3,5-piridinadicarboxilato.*

$C_{26}H_{29}N_3O_6$

Peso molecular 479.54

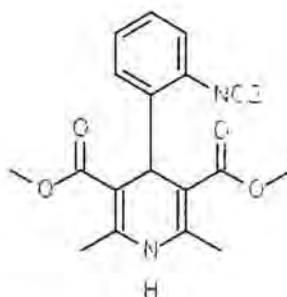


Nifedipino (CAS 21829-25-4)

*Bis-metil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-3,5-piridinadicarboxilato.*

$C_{17}H_{18}N_2O_6$

Peso molecular 346.34

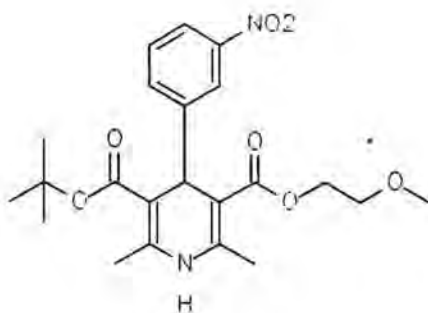


Nimodipino (CAS 66085-59-4)

*2-Metoxietil 1-metiletil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-Nitrofenil)-3,5-piridinadicarboxilato.*

$C_{21}H_{26}N_2O_7$

Peso molecular 418.45

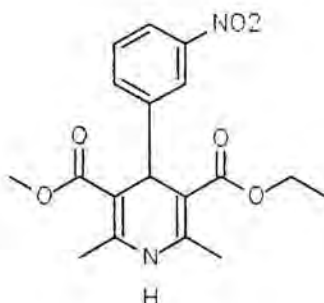


Nitrendipino (CAS 39562-70-4)

*Etil metil 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridinadicarboxilato.*

$C_{18}H_{20}N_2O_6$

Peso molecular 360.37



Los fármacos fueron suministrados por las siguientes firmas:

- Felodipino suministrado por los Laboratorios Hassle, Mondale, Suecia.
- Nicardipino suministrado por los Laboratorios Ferrer Internacional, Barcelona, España.
- Nifedipino, Nimodipino y Nitrendipino suministrados por Chemo Iberica, Barcelona, España.

Todas las sustancias fueron utilizadas como se recibieron de los laboratorios suministradores, excepto el nicardipino que fué suministrado en forma de clorhidrato y a partir de este se formó la base libre por neutralización con hidróxido sódico en medio etanólico, posterior precipitación en agua y desecación a vacío. Tras la obtención de la base se procedió a su identificación por espectroscopia de resonancia magnética nuclear, el espectro obtenido, para la nicardipina base disuelta en  $CDCl_3$ , está representado en la Figura IV-1, y a la caracterización del mismo por valoración de un grupo básico con ácido perclórico, obteniéndose una riqueza para la base del 99.7%.

Todas las manipulaciones y experiencias realizadas con las dihidropiridinas, fueron llevadas a cabo bajo condiciones de iluminación reducida o con luz roja y en material de vidrio de color topacio, debido a la elevada fotosensibilidad de las mismas.

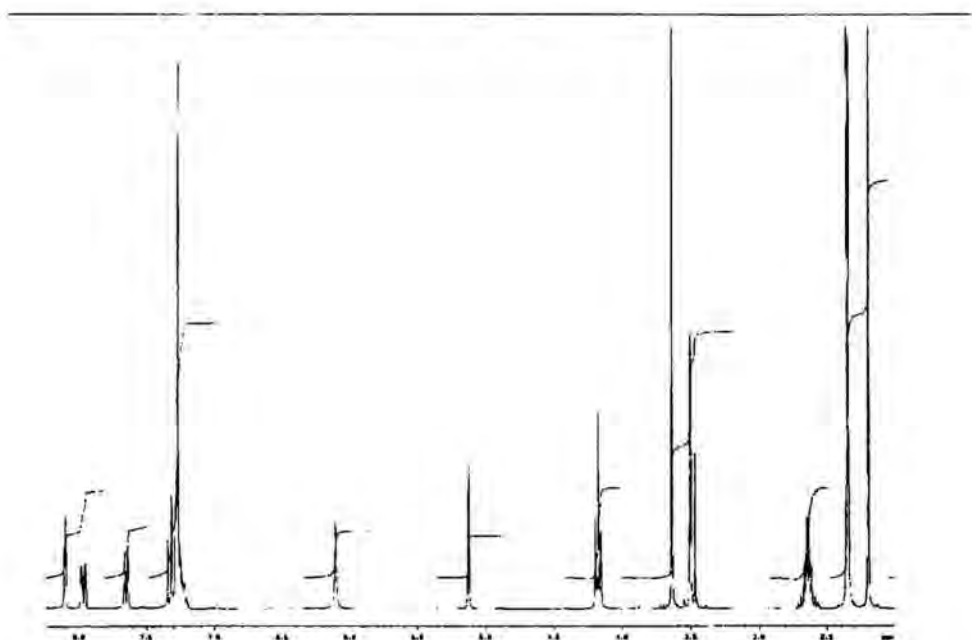


Figura IV.1.- Espectro de RMN obtenido para el nicardipino base en  $CDCl_3$

## 1.2 Penetrantes

Los penetrantes utilizados en el presente estudio son:

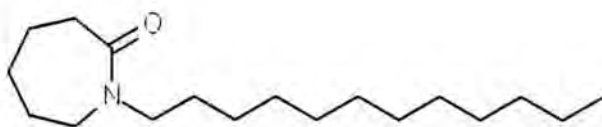
Azona, D-Limoneno y Miristato de Isopropilo. Sus estructuras químicas así como sus fórmulas y sus pesos moleculares se detallan a continuación.

Azona (Laurocapram) (CAS nº 59227-89-3)

*1-Dodecil hexahidro-2H-azepin-2-ona.*

$C_{18}H_{35}NO$

Peso molecular 281.49

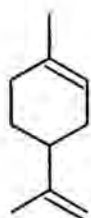


d-Limoneno (CAS nº 138-83-6)

*1-Metil-4-(1-metil etenil) ciclohexeno.*

$C_{10}H_{16}$

Peso molecular 136.23

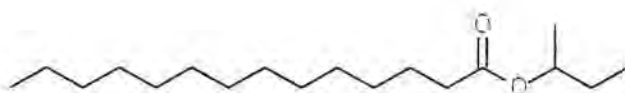


Miristato de isopropilo (CAS nº 110-27-0)

*1-Metil etil ester del ácido tetradecanoico.*

$C_{17}H_{34}O_2$

Peso molecular 270.44



Los penetrantes fueron suministrados por las siguientes firmas:

- Azona suministrada por Nelson Research Inc., Irvine, CA, U.S.A..
- D-Limoneno suministrado por Sigma Chemicals, Deisenhofen, Alemania.
- Miristato de isopropilo suministrado por Glyco Iberica S.A, Barcelona.

### 1.3. Sustancias marcadas

El agua tritiada, empleada para la comprobación de la integridad de la piel, con una actividad específica de 1mCi/g, fué suministrada por Dupont NEN Research, Inglaterra.

### 1.4. Reactivos

Todos los reactivos empleados fueron suministrados por empresas

## Material y Métodos

distribuidoras de reconocida garantía. En la tabla 1 se especifica su origen comercial y pureza.

**Tabla 1.- Origen comercial, calidad y pureza de los productos utilizados.**

PRODUCTO QUIMICO	CALIDAD	ORIGEN COMERCIAL
Dihidrógenofosfato de sodio (99.5%)	P.A.	MERCK Art. 4873
Acido ortofosforico (85%)	P.A.	MERCK Art. 573
Hidróxido de potasio (85%)	P.A.	MERCK Art. 5021
<i>n</i> -Octanol (99%)	P.A.	CARLO ERBA Cod.415003
Etanol absoluto (99.8%)	P.A.	MERCK Art. 983
Acetonitrilo (99.85%)	CLAE	SCHARLAU Cod.329
Tampón pH 7.00	-----	MERCK Art. 9477
Tampón pH 4.00	-----	MERCK Art. 9475
Coctail de escintilación Insta-Gel II	-----	PACKARD

### 1.5. Animales

En el presente estudio se han utilizado para la obtención de la piel empleada, como membrana de permeación, ratas lampiñas suministradas por Charles River (Italia), de nueve a quince semanas, con un peso comprendido entre 190 y 250 g. Los animales se mantuvieron en condiciones normales de estabulación (temperatura  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 50% de humedad relativa, y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas). Los animales estuvieron provistos de alimento y agua *ad libitum* hasta el día de la experiencia.

### 1.6. Aparatos auxiliares

Se han utilizado como aparatos auxiliares:

- Báscula Mettler PA 3000 para pesar los animales.

- Balanza de precisión monoplato METTLER Modelo H35AR.
- Baño de ultrasonidos SELECTA, para la desgasificación de disolventes y disolución .
- Baño termostático provisto de agitación para la determinación de la solubilidad y coeficientes de reparto.
- Centrífuga HERAEUS LABOFUGE 6000.
- Agitatos HEIDOLPH.
- pHmetro CRISON M-27 para determinar y controlar el pH de las soluciones tampón requeridas.
- Equipo Milli-Q para la obtención de agua calidad CLAE.

## 2. Métodos

### 2.1. Ensayos de permeación

En este apartado se detalla la técnica analítica "*in vitro*" utilizada para determinar la permeación de las dihidropiridinas a través de piel de rata lampiña.

#### 2.1.1. Célula de difusión

En los ensayos de permeación se han utilizado células de Franz mejoradas (FDC-400) de 20 mm de diámetro, suministradas por la firma Crown Glass Co. Inc. (Somerville, N.J., USA). Basadas en el modelo de célula propuesto por Franz<sup>1</sup>.

La célula de difusión (fig. IV.2) está compuesta por dos compartimentos de vidrio neutro de color topacio entre los cuales se monta la piel, la cual debe permanecer, durante los ensayos, fijada mediante pinza de acero inoxidable o mediante unas mordazas que garantizan la estanqueidad del sistema. El área útil para la difusión entre los dos referidos compartimentos es de 3.14 cm<sup>2</sup>.

El compartimento inferior o compartimento receptor se llena completamente, tras montar la piel en la célula, con la solución receptora, a través del puerto de toma de muestra, de forma que, durante los ensayos, la solución este siempre

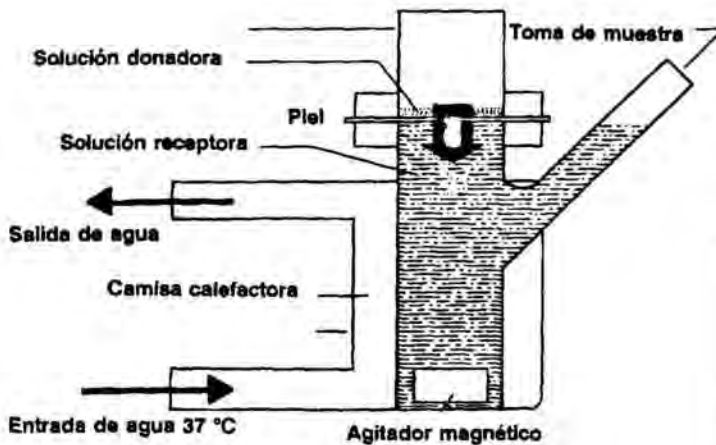


Figura IV.2.- Esquema de una célula de difusión de Franz.

en contacto con la cara dérmica de la piel (debe evitarse la formación de burbujas, a fin de mantener constante durante la experiencia la superficie de permeación), siendo el volumen útil de este compartimento de 15 ml. La temperatura se mantiene en el interior de la célula a 37°C por circulación de agua termostata-

da, la cual entra por la rama inferior de la camisa calefactora, del cuerpo receptor de la célula, y sale por la superior.

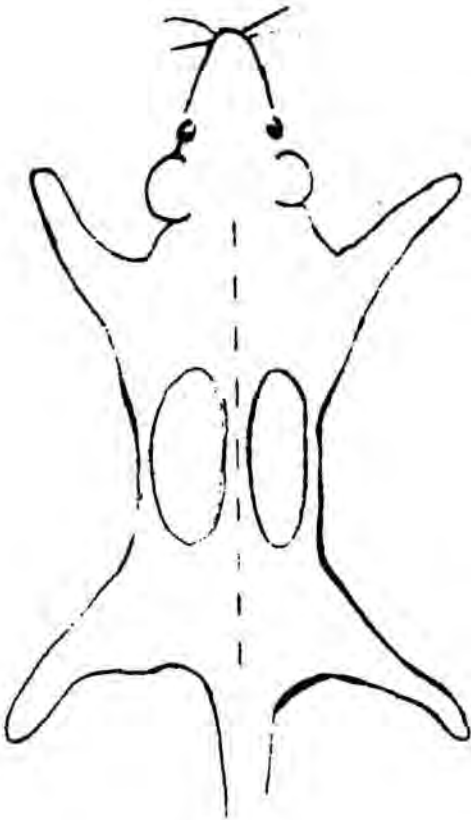
La perfecta homogeneización tanto de la temperatura como de concentración, en la solución receptora, se consigue mediante agitación de la misma por una barra magnética recubierta de teflón, movida por un agitador magnético externo.

En el compartimento superior o compartimento donador se sitúa la solución objeto de ensayo (solución donadora), la cual permanece aislada del medio ambiente, a fin de evitar la evaporación, mediante el sellado de este compartimento abierto con una lámina de "parafilm".

### 2.1.2. Membrana de difusión

En el presente estudio se ha empleado como membrana de difusión piel completa (estrato córneo, epidermis y dermis) dorsal de rata lampiña.

Los animales se sacrifican por dislocación cervical y a continuación manteniéndolos sujetos a un tablero quirúrgico, se procede a separar dos secciones circulares, de unos 30 mm de diámetro, a la altura media de la zona dorsal y a ambos lados de la columna vertebral (Fig.IV.3), utilizando al



**Figura IV.3.-** Representación esquemática de las zonas de extracción de la piel empleada en los estudios de permeación.

compartimento receptor una pequeña barra magnética recubierta de teflón. Una vez montadas las células, se procede a rellenar el compartimento receptor a través del puerto de toma de muestra con solución etanólica al 50% (15 ml), calentada previamente a la temperatura del ensayo. Una vez llenas las células, se procede a montarlas en una consola de acero inoxidable, Fig. IV.4, provista de salidas y entradas, individuales, para el agua de termostatización, bloques de metacrilato para la sujeción de las células y agitadores magnéticos, con una velocidad de giro de 600 r.p.m. .

efecto unas tijeras de punta redonda y pinzas en "diente de ratón". Tras la extracción de la piel, se procede a la cuidadosa eliminación de la grasa y las adherencias de tejido subcutáneo de la cara dérmica de la piel.

Seguidamente, las piezas circulares de piel se sumergen en solución de cloruro sódico al 0.9%, en la que se mantienen durante un período de 24 horas, a una temperatura de 4°C, a fin de conseguir una hidratación homogénea en todos los ensayos.

### 2.1.3. Estudio de permeación

Las piezas de piel hidratada obtenidas de las ratas lampiñas se montan en las células de difusión, disponiendo previamente en el

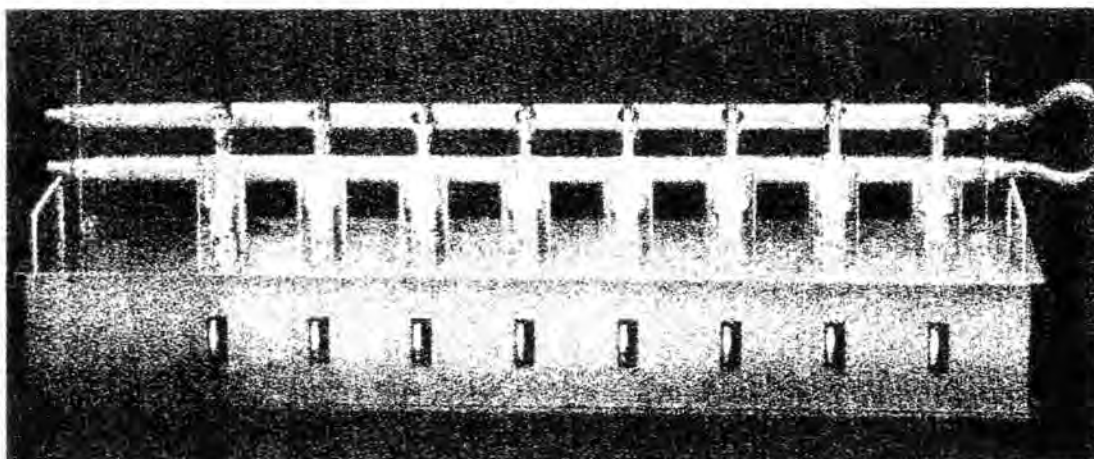


Figura IV.4.- Consola para 8 células de Franz.

### 2.1.3.1 Comprobación de la integridad de la membrana.

Una vez montadas las células en la consola de difusión, cada una de las piezas de piel fue analizada a fin de comprobar su integridad como barrera, determinando la permeabilidad al agua tritiada por el método descrito por Bronaugh y Steward<sup>2</sup>. Se aplica  $1\mu\text{Ci}$  del radioisótopo en un volumen de agua suficiente para cubrir la superficie de la piel ( $500\ \mu\text{l}$ ). Tras cinco minutos, el material marcado se retira de la piel con una varilla de algodón, posteriormente, se lava una sola vez la superficie de la piel con agua destilada y se seca con una nueva varilla de algodón.

La difusión del agua tritiada a través de la piel se continua durante 55 minutos adicionales, transcurridos los cuales se extraen  $500\ \mu\text{l}$  de solución receptora, que se repone con idéntica cantidad de etanol al 50%. En la muestra extraída de la solución receptora se determina el porcentaje de la dosis aplicada de  $^3\text{H}$  agua, que penetra a través de la piel, por centelleo líquido.

La piel con propiedades de barrera intactas deja pasar cantidades inferiores al 0.09% de la dosis aplicada de agua tritiada. Las piezas de piel que presentan una permeación mayor no se utilizan.

### 2.1.3.2 Toma de muestras

A tiempo cero se deposita, en el compartimento donador, un volumen de 1 ml de la solución saturada de fármaco objeto de ensayo, a fin de mantener la

concentración constante en el compartimento donador durante el transcurso de la experiencia, se añadió a la solución donadora una porción de fármaco en estado sólido, procediendo seguidamente al sellado del compartimento con una lámina de parafilm a fin de evitar la evaporación . A continuación, se procede a la toma de muestras en el compartimento receptor a intervalos de tiempo previamente prefijados. El volumen extraído en cada muestra (500  $\mu$ L) se repone con etanol al 50%, a la temperatura del ensayo.

Las muestras, así obtenidas, se filtran a través de filtros de membrana de nylon, de 0.22  $\mu$ m de tamaño de poro, y se disponen en viales de cromatografía de vidrio, de color topacio, que se guardan en nevera a 4°C hasta el momento de su valoración.

Previamente a las experiencias se comprobó la estabilidad de cada uno de los fármacos empleados en la elaboración de la presente Memoria, en las condiciones experimentales del estudio.

#### **2.1.4. Técnicas analíticas**

Las técnicas analíticas empleadas en la presente Memoria han sido centelleo líquido y cromatografía líquida de alta eficacia, cuyas especificaciones se detallan a continuación:

##### **2.1.4.1 Centelleo líquido**

Para la estimación de la concentración de agua triatada en las muestras extraídas para la comprobación de la integridad de la membrana se utilizó la técnica de centelleo líquido .

El centelleo líquido es una técnica de medición de radiactividad basada en transformar la energía radioactiva en energía luminosa, la cual es medida instrumentalmente mediante su conversión en energía eléctrica. Esta técnica resulta muy adecuada para cuantificar emisores  $\beta$  débiles tales como el tritio ( $\beta^- = 18$  Kev).

La transformación radiactividad-luz tiene lugar dentro del vial en el que, junto con el material radioactivo, se colocan disolventes y sustancias centelleadoras. La solución centelleadora transforma la energía de las partículas emitidas por la muestra radioactiva en destellos luminosos.

La radiación  $\beta$  está constituida por los electrones emitidos con velocidades distintas por el núcleo de los isótopos inestables. Debido a ello, el espectro de energía de la radiación  $\beta$  es continuo. La radiación  $\beta$  tiene una energía máxima de emisión que depende de las fuerzas de unión nucleares, y es característica de cada radioisótopo.

La finalidad de las determinaciones por centelleo líquido radica en averiguar la actividad de una muestra expresada, por ejemplo, en desintegraciones por minuto (dpm). Para calcular este valor a partir de las cuentas por minuto (cpm) halladas por el instrumento de medida, se requiere conocer la eficiencia del contaje, parámetro que viene definido por la relación :

$$\text{Eficiencia} = \frac{\text{Valor hallado (cpm)}}{\text{Valor real (dpm)}}$$

El hecho de que este valor no sea la unidad es consecuencia de que se producen pérdidas en el contaje debidas a la instrumentación y a la muestra. Las pérdidas de contaje debidas al aparato son producidas por los siguientes motivos:

- Debido a la probabilidad de que el fotón no sea detectado por el aparato no es nula. La desintegración en este caso no es contada.
- La probabilidad de detección aumenta con el número de fotones. En consecuencia, la probabilidad de detección disminuye cuando la energía de las partículas  $\beta$  es muy débil.

Las pérdidas de contaje debidas a la muestra tienen por origen la absorción total o parcial de la energía liberada por la radiación. Así, si las partículas radioactivas en lugar de disueltas se hallan en suspensión, parte de las partículas  $\beta$  son autoabsorbidas al atravesar las distintas capas de materia radiactiva, y no llegan a alcanzar el líquido centelleador. Otras pérdidas, denominadas "quenching" o extinción, son debidas a la absorción de fotones y dependen de la transparencia de los constituyentes de la muestra contenida en el vial y de la pared de este.

La corrección de las pérdidas de contaje se efectúa a partir del conocimiento de la eficiencia de contaje. Esta eficiencia se determina mediante métodos de calibración.

### 2.1.4.2 Modo operativo

Dada la naturaleza de las muestras procedentes de las células de difusión no se precisa ningún tratamiento previo para su determinación.

En todos los casos se introducen 500  $\mu$ l de solución receptora en un vial de centelleo y se añaden 5 ml de cocktail de centelleo. La lectura se realiza a las 24 horas para asegurar la desaparición de la quemiluminiscencia.

Junto con las muestras problema se preparan muestras de blanco para el control de los fondos de las determinaciones .

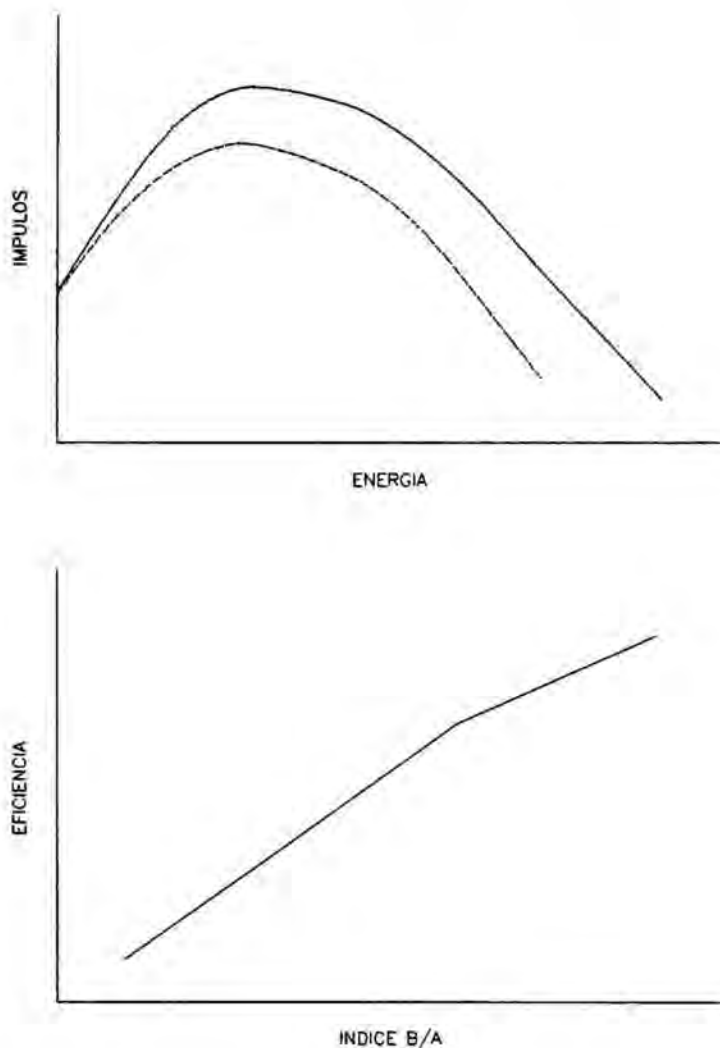
### 2.1.4.3 Método de calibración

El método empleado para hallar la eficiencia con que se ha medido la muestra dispuesta en cada vial, ha sido el del estándar externo con relación de canales.

Este método se fundamenta en hacer aparecer partículas  $\beta$  dentro del vial sin necesidad de añadir un estándar interno. Ello se consigue colocando una fuente emisora cerca del vial, lo que, por efecto Compton, produce electrones que se comportan como partículas  $\beta$ . En consecuencia, estos electrones presentan un espectro que al aumentar el "quenching" se desplaza a la izquierda, hecho que se aprovecha, mediante la relación de canales, para calibrarlo frente a la eficiencia (Fig. IV.5).

La secuencia de trabajo del método es la siguiente :

1. La muestra se cuenta en condiciones idóneas para el isótopo de trabajo durante el tiempo requerido. Sean  $C$  las cuentas halladas en el canal con las condiciones elegidas.
2. La muestra se cuenta de nuevo, con el estándar externo junto al vial, durante  $n$  tiempo que suele ser de 30 segundos en unas ventanas  $A$  y  $B$ , prefijadas según sea la naturaleza del estándar externo utilizado. Sean  $C_{1A}$  y  $C_{1B}$  las cuentas halladas en los canales  $A$  y  $B$  respectivamente.



**Figura IV.5.-** Los fenómenos de quenching producen un espectro de emisión aparentemente mas débil dado que los destellos mas intensos son absorbidos.

3. Se vuelve a contar de nuevo la muestra, pero sin el estándar externo, en las mismas ventanas e igual tiempo ( $C_{2A}$  y  $C_{2B}$ ).

La relación de canales se calcula mediante la expresión:

$$\frac{B}{A} = \frac{C_{1B} - C_{2B}}{C_{1A} - C_{2A}} \quad (\text{Ec. 1})$$

siendo  $C_{1B} - C_{2B}$  las cuentas aparecidas en el canal B debidas sólo al patrón externo y  $C_{1A} - C_{2A}$  las cuentas aparecidas en el canal A debidas sólo al patrón

externo.

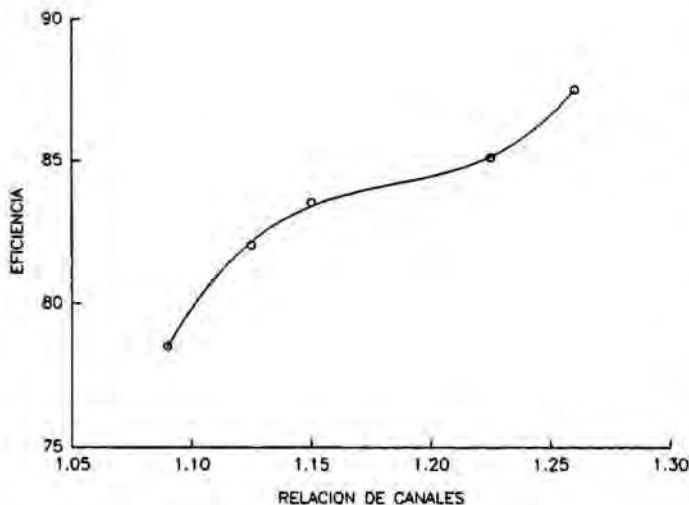
Si las muestras son patrones con un número de dpm conocido ( $D$ ) se calculan las eficiencias a partir de las cpm ( $C$ ) halladas ya que  $E=C/D$  y se traza la curva de calibración frente a los cocientes  $B/A$  respectivos.

Para conocer las dpm de una muestra problema, el espectrómetro de centelleo calcula los valores de cpm y la relación  $B/A$ . A continuación interpola, en la curva de calibración, el valor  $B/A$  y el propio aparato obtiene el valor de la eficiencia.

Conocida esta y las cpm, las dpm de la muestra se calculan por aplicación directa de la ecuación  $E=C/D$ .

Se ha utilizado el contador de centelleo líquido LKB modelo 1217. El cual esta dotado de un microprocesador que permite el cálculo automático de las curvas de calibración a partir de los viales previamente preparados.

Una vez almacenada en memoria la curva patrón, el contador calcula las dpm de cada vial a partir del número de quenching calculado por el método del estándar externo con relación de canales.



**Figura IV.6.-**Curva de calibración obtenida empleando el método de los splines entre relación de canales y eficiencia.

externo se utiliza una fuente de radio 226.

La curva de calibración que relaciona la eficiencia con la relación de canales se representa en la Fig. IV.6.

Conocidos los  $\mu\text{Ci}$  que contiene la sustancia radiactiva de referencia (agua

Para confeccionar la recta de calibrado se procede del modo siguiente:

En cinco viales de plástico especiales para estudios de centelleo, se depositan 5 ml de cocktail Insta-gel II. Se adicionan cantidades crecientes de etanol al 50% 0.1, 0.5, 1, 1.5 y 2 ml a los viales, y a continuación se someten a agitación suave. Seguidamente, se incorpora a cada uno de los viales una cantidad constante, 10  $\mu\text{l}$ , de patrón radiactivo (agua tritiada). Como patrón

tritiada), a partir de las dpm de la muestra problema determinadas por aplicación directa de la eficiencia, se determina el porcentaje de agua tritiada en la muestra, lo que permite determinar la integridad de la piel utilizada como membrana de permeación.

### **2.1.5.2 Cromatografía líquido-líquido de alta eficacia.**

En este apartado se detalla el método de valoración por HPLC de los fármacos ensayados en el presente estudio.

#### **2.1.5.2.1 Condiciones cromatográficas**

El cromatógrafo empleado fue un HPLC system 400 de KONTRON (KONTRON Instruments, Zurich, Suiza) formado por los siguientes elementos:

- Dos bombas Mod. 420
- Detector espectrofotométrico de longitud de onda variable Mod.432
- Inyector automático Mod. 460
- Mezclador de solventes
- Sistema controlador Data system 450

Las condiciones cromatográficas empleadas para todos los antagonistas del calcio ensayados fueron:

Columna: Cartucho Novapack C-18 5 $\mu$ m (8X100mm) montado en un módulo de compresión radial RCM 8x10 (Waters Associates, Milford, USA)

Fase móvil: Acetonitrilo:Tampón fosfato 10mM pH 4.5 (70:30)

Flujo: 1ml/min

Detección: Ultravioleta a 237nm      Tiempo de respuesta: 0.2 s

Rango: 0.5 U.A.

Temperatura: Ambiente (20°C)

Presión: 60 BAR

Método de cuantificación: Patrón externo

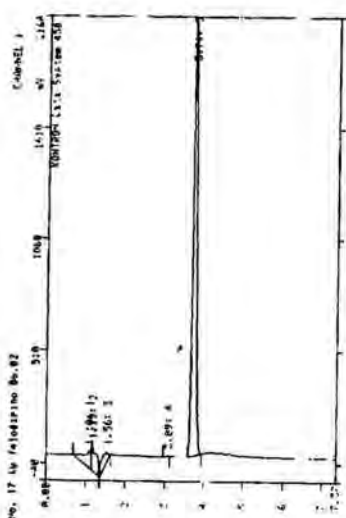


Fig IV.7.-Cromatograma de felodipino.

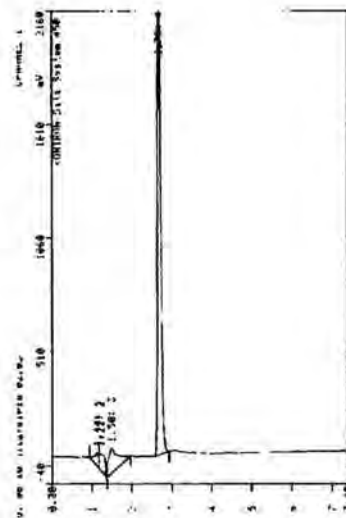


Fig.IV.8.-cromatograma de nicardipino

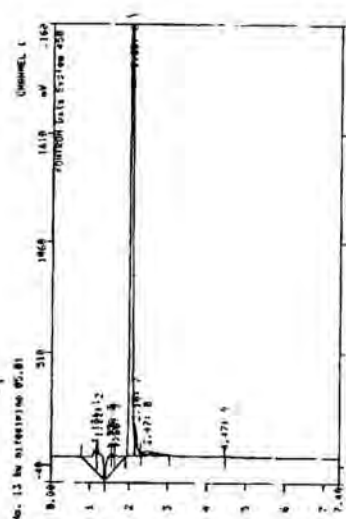


Fig.IV.8.-cronatograma de nifedipino.

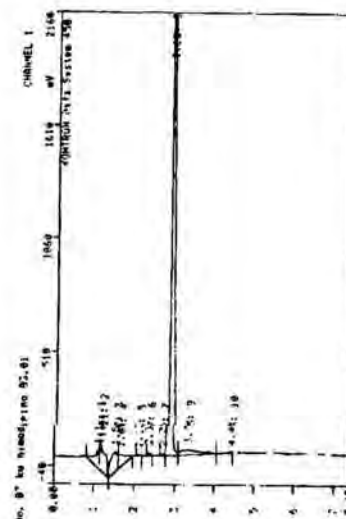


Fig. IV.10.-Cromatograma de nimodipino.

Los eluyentes que han de pasar por la columna se filtran a través de filtro de membrana de nylon de  $0.22 \mu\text{m}$  de tamaño de poro, y se desgasifican en un baño de ultrasonidos.

En las Figuras IV.7 a IV.10 están representados los cromatogramas obtenidos para cada uno de los cinco fármacos estudiados, tras inyectar en el cromatógrafo soluciones de una concentración de  $12,5 \mu\text{g/ml}$ .

### 2.1.5.2.2 Modo operativo

Las muestras extraídas de las células de difusión y conservadas en nevera se dejan atemperar antes de inyectarlas directamente en el cromatógrafo.

El volumen de muestra inyectado es de  $20 \mu\text{l}$  salvo en aquellos casos en que las concentraciones de fármaco superan el valor de  $50 \mu\text{g/ml}$ , en los que se inyectan  $10 \mu\text{l}$ . En el caso de trabajar con concentraciones superiores a los  $50 \mu\text{g/ml}$  se diluye la muestra con solución etanólica al 50%, hasta conseguir una concentración adecuada para la interpolación de la misma en la recta de calibración.

### 2.1.5.2.3 Rectas de calibrado

Se preparan soluciones estándar de cada una de los antagonistas del calcio ensayados a fin de obtener las rectas de calibrado.

Mediante interpolación en estas, se podrán conocer los niveles de fármaco en las muestras extraídas a diferentes tiempos.

A partir de una solución madre de  $1 \text{ mg/ml}$  de cada una de las dihidropiridinas y mediante sucesivas diluciones se preparan soluciones patrón de  $50, 25, 12.50, 6.25, 3.125, 1.56, 0.780, 0.390$  y  $0.195 \mu\text{g/ml}$ .

Tanto las soluciones patrón como los estándares de las correspondientes rectas de calibración se preparan el mismo día del ensayo y se conservan, junto con las muestras a valorar, en nevera a  $4^\circ\text{C}$ , hasta el día del análisis.

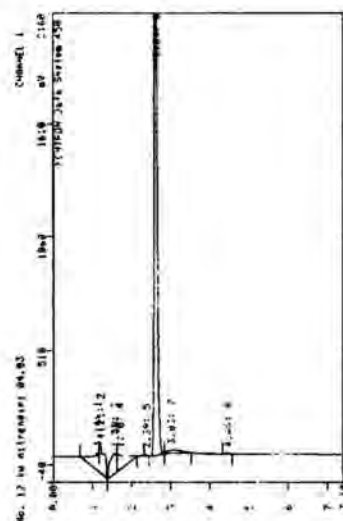


Fig. IV.11.- Cromatograma de nitrendipino.

### 2.1.5.2.5 Validación de la técnica analítica

Para la validación del método de valoración de las dihidropiridinas estudiadas se han calculado los siguientes parámetros con el fin de elucidar si el método seguido para analizar las mencionadas dihidropiridinas es fiable:

- linealidad
- precisión del método
- exactitud del método
- sensibilidad

#### **Linealidad**

La linealidad representa, la proporcionalidad entre la concentración del producto analizado y la respuesta en el intervalo o ámbito de concentraciones de producto ensayado, para las cuales el método es satisfactorio. En otras palabras, se entiende como linealidad la capacidad de un método analítico de obtener unos resultados linealmente proporcionales a la concentración de producto analizado contenido en una muestra, dentro de un intervalo considerado. Muchos autores consideran la linealidad como un criterio inicial de validación.

Para comprobar la linealidad del método, se determinan las mismas concentraciones de dihidropiridina que para el cálculo de la recta de calibración, cuantificando las muestras siguiendo exactamente el procedimiento descrito. Cada análisis se efectúa por sextuplicado, tanto intradia como interdia.

La prueba realizada para el cálculo de la linealidad es la determinación del coeficiente de correlación ( $r$ ).

Como bien es sabido, el coeficiente de correlación refleja el grado de relación entre las variables X (concentración) e Y (respuesta, en nuestro caso áreas). Su valor máximo es 1. Si  $r$  es cercano a la unidad, significa que existe correlación con una probabilidad elevada.

Para estudiar la existencia de linealidad en el ámbito de concentraciones ensayado, se ha efectuado adicionalmente un análisis de varianza de una vía entre los valores de la relación respuesta/concentración a las diferentes concentraciones estudiadas y para cada una de las especies.

### **Precisión y exactitud**

La precisión es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de ensayos analíticos efectuados sobre una muestra homogénea o, expresado en otra forma, la distribución de los valores analíticos alrededor de su media. La precisión indica el grado de reproducibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de trabajo, es decir, la capacidad del método para dar resultados semejantes cuando se aplica repetidamente a una muestra, en condiciones constantes y determinadas<sup>3</sup>.

Una definición mucho más simple es la de considerar la precisión como la estimación de la variabilidad de las mediciones<sup>4</sup>.

La exactitud representa el grado de concordancia entre el valor medio de una cantidad o parámetro y su valor verdadero<sup>5</sup>. La exactitud indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximos posible al valor verdadero.

No deben confundirse exactitud y precisión. La precisión, como se ha indicado anteriormente, está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da ninguna indicación de la proximidad al valor verdadero, podemos tener mediciones muy precisas pero poco exactas; sin embargo, para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión.

Se ha calculado la precisión y la exactitud del método de valoración haciendo uso de soluciones de cada dihidropiridina, en un ámbito de concentraciones que oscila de 50 a 0.340  $\mu\text{g/ml}$  en etanol al 50%.

El procedimiento seguido para la cuantificación de las muestras es el mismo que el descrito anteriormente.

Las ecuaciones utilizadas para el cálculo de estos parámetros son:

$$\text{Precisión} = \frac{\sigma}{X} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

$$\text{Exactitud} = \frac{X - X_r}{X_r} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde  $X$  es la concentración media observada en las seis soluciones de cada concentración.

$\sigma$  es la desviación estándar de las muestras de cada concentración.

$X_i$  es la concentración real en cada solución de cada concentración.

Un caso específico de precisión lo constituye la reproducibilidad puesto que es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra pero en distintas condiciones, en nuestro caso, distintos días. Por ello se calcula determinando el coeficiente de variación.

Con el fin de comprobar si una misma concentración da lugar siempre a la misma respuesta cromatográfica, se comparan las rectas de calibrado para una misma dihidropiridina determinadas en días diferentes, y se calcula el coeficiente de variación tanto de cada concentración como de los tiempos de retención asociados a ella.

### **Sensibilidad**

La sensibilidad es la capacidad de un método analítico de registrar ligeras variaciones de la concentración. Deben distinguirse dos tipos de sensibilidad: La sensibilidad de calibrado, que es igual a la pendiente de la recta de calibración, es decir, la señal o respuesta por unidad de concentración o cantidad. Se define como el cociente diferencial de la función de calibrado (cociente de la diferencia entre dos valores de la señal medida y la diferencia entre sus respectivos valores de la propiedad a medir)<sup>6</sup>. Dicho de otra manera y aplicando este concepto a nuestro caso, sensibilidad de calibrado o simplemente sensibilidad es la pendiente de la recta de calibrado a la concentración que interese.

Cuando la función de calibrado es lineal, la sensibilidad es constante e igual a la pendiente de la recta de calibración. Cuanto más alta es la pendiente más sensibilidad posee el método.

La sensibilidad analítica es la de calibrado dividida por la desviación estándar de la respuesta, es decir, la pendiente de la curva analítica de calibrado dividida por la desviación estándar de la señal analítica de medición. Es inversamente proporcional a la capacidad para distinguir pequeñas diferencias en la concentración media. Las ventajas que presenta sobre la sensibilidad de calibrado son, de forma esquemática las siguientes:

- Permite una mejor comparación de distintas técnicas de análisis.
- Es independiente de cualquier transformación matemática realizada.

Se ha calculado la sensibilidad analítica para las concentraciones utilizadas

para construir la recta de calibrado.

## 2.1.6 Tratamiento de los datos experimentales

### 2.1.6.1 Estimación de los parámetros de permeación

A fin de analizar el paso de fármaco a través de la piel, se considera a esta como una membrana homogénea y plana. Cuando se sitúa una solución de fármaco sobre la piel que actúa como membrana de entre dos compartimentos, el paso del fármaco a través de la membrana viene regido por las leyes de la difusión<sup>7</sup>. Así la cantidad total de fármaco ( $Q_t$ ), considerando una dosis infinita, que penetra a través de una membrana homogénea en un tiempo  $t$ , desde la solución donadora, a una concentración constante ( $C_0$ ), a la fase receptora en condiciones SINK, viene dada por la siguiente ecuación:

$$Q_t = (AKLC_0) \left[ \frac{Dt}{L^2} - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left(\frac{-Dn^2\pi^2 t}{L^2}\right) \right] \quad (\text{Ec. 4})$$

donde  $A$  es el área de aplicación;  $L$  es el grosor de la membrana;  $K$  es el coeficiente de partición del fármaco entre la membrana y la solución donadora; y  $D$  es el coeficiente de difusión del fármaco en la piel<sup>7,8</sup>. Debido a que existe una gran dificultad en determinar correctamente el espesor real de difusión de la membrana, se pueden definir dos parámetros que engloban el espesor de la membrana de difusión, como son, el parámetro de difusión  $P_1$  y el parámetro de partición  $P_2$ <sup>9</sup>, los cuales vendrían definidos por las ecuaciones:

$$P_1 = \frac{D}{L^2} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$P_2 = K \cdot L \quad (\text{Ec.6})$$

utilizando estos parámetros la ecuación 4 puede ser escrita de la siguiente forma:

$$Q_t = (AP_2C_0) \left[ P_1 t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp(-P_1 n^2 \pi^2 t) \right] \quad (\text{Ec. 7})$$

Para determinar los parámetros  $P_1$  y  $P_2$ , a partir de los datos experimentales obtenidos en cada experiencia de permeación, se realiza el ajustado de la ecuación 7 a los datos experimentales por regresión no lineal por mínimos cuadrados, mediante el programa iterativo MULTI (cita Yamaoka y col. 1981). A partir de los valores obtenidos de los parámetros  $P_1$  y  $P_2$  pueden calcularse fácilmente la constante de permeabilidad  $K_p$ , el período de latencia  $T_l$  y el flujo  $J$  por medio de las siguientes ecuaciones:

$$K_p = P_1 \cdot P_2 \quad (\text{Ec. 8})$$

$$T_l = \frac{1}{6P_1} \quad (\text{Ec. 9})$$

$$J = C_0 \cdot K_p \quad (\text{Ec. 10})$$

Las cantidades permeadas a las 24 h  $Q_{24}$  se calculan a partir de la ecuación (7) dando a  $t$  el valor de 24 h.

### 2.1.6.2 Estimación de la utilización potencial de los fármacos estudiados en forma de SAT.

Flynn y col.<sup>11</sup> proponen que la dosis a administrar por vía transdérmica cada 24 h, puede calcularse, sin tener en cuenta un posible, pero relativamente improbable, metabolismo en la piel, a partir de la siguiente expresión:

$$D_{(24h \text{ transdér.})} = D_{(24h \text{ oral})} \cdot \frac{(100 - \% \text{ efecto } 1^{er} \text{ paso})}{100} \quad (\text{Ec.11})$$

Si se fija como límite razonable para el área de permeación del hipotético sistema transdérmico, un área de 16 cm<sup>2</sup>; según propugnan Flynn y col., si la dosis diaria a utilizar por vía transdérmica, no es más de 16 veces superior a la cantidad de fármaco que atraviesa la piel por unidad de área (cm<sup>2</sup>) en 24 horas (una vez se ha alcanzado el estado de equilibrio estacionario de permeación), el fármaco en cuestión, es susceptible de ser formulado en forma de SAT.

A fin de poner de manifiesto, en nuestras condiciones experimentales, si los fármacos estudiados son susceptibles de ser formulados en forma de SAT de acuerdo con lo propuesto por Flynn y col., se ha considerado que la piel de rata desnuda es tres veces más permeable que la piel humana<sup>12</sup>. De acuerdo con estas asunciones y teniendo en cuenta los parámetros farmacocinéticos de los fármacos estudiados<sup>13-18</sup>, se calculan los siguientes parámetros predictivos:

- Dosis transdérmica diaria ( $D_T$ )

$$D_T = D_0 \frac{[100 - E(\%)]}{100} \quad (\text{Ec.12})$$

Donde  $D_0$  es la dosis diaria por vía oral, y  $E(\%)$  es el porcentaje de la relación de extracción.

- Cantidad teórica permeada las primeras 24 h ( $X_{24}$ )

$$X_{24} = \frac{Q_{24} \cdot TTS_{\text{area}}}{A \cdot 3} \quad (\text{Ec.13})$$

Donde " $TTS_{\text{area}}$ " es la superficie del hipotético SAT (en nuestro caso 16 cm<sup>2</sup>),  $A$  es la superficie de permeación en las células (en nuestro caso 3.1416 cm<sup>2</sup>), y 3 es el factor de corrección de velocidad de permeación entre la piel de rata y la humana.

- Cantidad teórica permeada diaria en condiciones de estado estacionario ( $D_{ss}$ )

Donde  $J$  es el flujo,  $t$  es el tiempo (Al ser  $D_{ss}$  la dosis diaria permeada,  $t$

$$D_{ss} = \frac{J \cdot TTS_{area} \cdot t}{3} \quad (\text{Ec.14})$$

toma el valor 24 h), y 3 es el ya mencionado factor de corrección de la permeabilidad.

- Concentración plasmática teórica prevista en estado de equilibrio estacionario ( $C_{ss}$ )

$$C_{ss} = \frac{J \cdot TTS_{area}}{3 \cdot CL} \quad (\text{Ec.15})$$

Donde  $CL$  es el aclaramiento plasmático.

## 2.2. Determinación de la solubilidad

### 2.2.1. Solubilidad en etanol 50%

La determinación de la solubilidad a saturación, de los fármacos empleados en etanol al 50%, se llevó a cabo disponiendo, en tubos de ensayo provistos de tapón, un exceso de sustancia en el etanol. El conjunto se incubó a 37°C durante 20 horas, en un baño termostático. Tras la incubación, las muestras fueron sometidas a centrifugación a 2000xg durante un período de 10 minutos, tras lo cual, se extrajo el sobrenadante y se filtró a través de un filtro de membrana de nylon, de 0.22  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, siendo en el filtrado donde se realiza la determinación del contenido en dihidropiridina, tras dilución a la mitad con etanol al 50% (a fin de evitar la precipitación del fármaco al enfriarse la solución), por un método de CLAE.

### 2.2.2. Solubilidad en presencia de penetrantes

La determinación de la solubilidad de los fármacos en las mezclas etanol/agua/penetrante, utilizadas como soluciones donadoras en las experiencias con penetrantes, se realizó en matraces provistos de tapón, disponiendo un exceso de sólido en la mezcla etanol/agua/penetrante, e incubando la mezcla bajo agitación magnética a 37°C durante 20 h, en un baño termostático. Tras la incubación, las muestras fueron sometidas a

centrifugación a 2000xg durante un período de 10 minutos, tras lo cual, se extrajo el sobrenadante que se volvió a centrifugar en las mismas condiciones, tras esta segunda centrifugación, en la mayoría de los casos se obtienen dos fases, debido a que el penetrante no es totalmente miscible en la mezcla etanol/agua, se separó la fase hidroalcohólica y se filtró a través de un filtro de membrana de nylon de 0.22  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, siendo en el filtrado donde se realiza la determinación del contenido en fármaco, tras dilución de las muestras a la mitad con etanol al 50% (a fin de evitar la precipitación del fármaco al enfriarse la solución), por CLAE.

### **2.3. Determinación del coeficiente de reparto aparente n-Octanol-agua**

La determinación del coeficiente de reparto se realiza con n-octanol y agua presaturados cada uno con el otro, al menos durante un período de 24 h antes de la experiencia.

Se disponen, en tubos de 30 ml de capacidad provistos de tapón de rosca, volúmenes de 5 ml de cada una de las fases, con una concentración inicial del fármaco en la solución octanólica de  $2 \times 10^{-2}$  M. A continuación, se agitan los tubos en un baño termostático, a 37°C, durante 24 h, al cabo de las cuales se separan las fases por centrifugación a 2000xg durante 15 min a 37°C, se extrae una alícuota de la fase acuosa y en esta se determina el contenido en fármaco por CLAE. Las concentraciones en la fase octanólica se calcularon por diferencia entre la concentración de la fase acuosa y la concentración inicial. Los valores de  $P$  se determinaron a partir de 5 replicados.

### **2.4. Determinación del factor de capacidad cromatográfico extrapolado a 100% de agua en la composición del eluyente**

Gaspari y Bonaty<sup>11</sup> sugirieron la utilización del factor de capacidad cromatográfica ( $K'$ ) como parámetro representativo de la lipofilia. Este parámetro depende de las proporciones de la fase móvil cromatográfica, por lo que para fines comparativos la utilización del parámetro teórico  $K'_w$ , que corresponde al factor de capacidad para una hipotética fase móvil 100% acuosa.

Los valores de  $K'_w$  se han calculado utilizando acetonitrilo a varias concentraciones (30,40, 50,60 y 70 %) y solución reguladora de fosfatos 10 mM (pH 4.5) como fases móviles.

Se calcula el valor de  $K'$  para cada una de las dihidropiridinas ensayadas en fases móviles acetonitrilo:solución reguladora de fosfatos pH 4.7 con distintas proporciones de fase orgánica (30,40, 50,60 y 70% de acetonitrilo), para a continuación a partir de los valores de  $K'$  obtenidos calcular el valor de  $K'_w$  por extrapolación a 100% de agua mediante regresión lineal.

Para ello se utilizó un cromatógrafo KONTRON equipado con dos bombas Mod. 420, inyector automático Mod. 460, detector espectrofotométrico de longitud de onda variable Mod. 432 y sistema controlador DATA SYSTEM 450. El conjunto estaba provisto de un cartucho de fase reversa Novapak C<sub>18</sub> de 5  $\mu$ m de tamaño de partícula (8x100 mm) montado en un módulo de compresión radial RCM 8x10 de la firma Watters Associates (Milford, USA). Las distintas fases móviles empleadas, se prepararon disolviendo 1.36 g de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>K en 900 ml de agua, calidad HPLC, a continuación se ajustó el pH de la solución, por adición de ácido fosfórico 0.1M ó potasa 0.1M, a  $4.7 \pm 0.05$ , procediendo seguidamente a enrasar el volumen de la solución hasta 1 litro con agua HPLC. A esta solución reguladora de fosfato se le añadieron distintos volúmenes de acetonitrilo, calidad HPLC, a fin de obtener los porcentajes en volumen de fase orgánica del 30,40,50,60 y 70% y el pH de la solución final fue ajustado a  $4.5 \pm 0.05$  por adición, gota a gota, de ácido fosfórico. Los componentes acuosos y orgánicos de la fase móvil se filtraron por separado antes de su mezcla y la fase móvil se desgasificó, en baño de ultrasonidos, antes de su utilización.

Se inyectaron 20  $\mu$ l de solución metanólica de cada dihidropiridina. Todas las determinaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente (20°C) y el flujo empleado fue 1 ml/min.

Los valores de  $K'$  se calcularon mediante la siguiente expresión:

$$K' = \frac{(t_R - t_0)}{t_0} \quad (\text{Ec.17})$$

dónde  $t_R$  es el tiempo de retención de la dihidropiridina y  $t_0$  es el tiempo de retención de una sustancia patrón para la cual la fase estacionaria no tiene capacidad de retención (acetona).

A partir de los valores de  $K'$  obtenidos para cada una de las sustancias ensayadas se extrapola el valor de  $K'$  para una supuesta fase móvil en la que

el 100% fuese componente acuoso ( $K'_w$ ) por regresión lineal. Los valores de  $K'_w$  se calculan a partir de tres replicados.

### 2.5 Teorías de la absorción de medicamentos.

Desde principios de siglo es conocido que la lipofilia de los compuestos está en relación con su capacidad de absorción (1, 2). A partir de este hecho y en el transcurso del tiempo, diversos investigadores han estudiado en profundidad la problemática de la absorción con la pretensión de dilucidar los mecanismos de absorción de los xenobióticos. BRODIE y col. (3, 4, 5, 6) fueron pioneros en este campo y sus investigaciones cristalizaron en la teoría acerca de los mecanismos de absorción que propusieron estos autores. Investigaciones posteriores pusieron de manifiesto las limitaciones de la teoría propuesta por BRODIE para explicar el mecanismo de absorción de los xenobióticos a través de membranas no especializadas y, por otra parte, las predicciones de la absorción de distintas sustancias en base a la citada teoría no resultaron ser satisfactorias (7, 8, 9). No obstante, las teorías de BRODIE supusieron un gran avance en la interpretación de los mecanismos de absorción de los xenobióticos y tuvieron el gran mérito de ser el inicio para desarrollar en años posteriores una serie de trabajos que permitieron obtener información más realista del proceso de absorción de las sustancias.

Centrados en el tema de la presente Memoria, la penetración de fármacos a través de la piel, una sucinta consideración acerca de esta membrana de permeación, permite interpretar que su composición está formada por capas lipófilas e hidrófilas, con predominio cuantitativo de las primeras, desde el estrato córneo hasta la dérmis salpicada de discontinuidades formadas por folículos pilosos y las glándulas sudoríporas. La estructura de la piel carece de pasos acuosos y, por consiguiente el paso de las sustancias a su través, se realiza por difusión pasiva ya sea intracelular, intercelular o interfolicular.

De las teorías respecto al paso de sustancias a través de membranas que proliferaron a la luz de los resultados y postulados de BRODIE, de acuerdo con la estructura y morfología de la piel, en principio, pueden aplicarse para el estudio del mecanismo de penetración a su través de los xenobióticos, las teorías compartimentales y las teorías probabilísticas.

### **Teorías compartimentales**

Las teorías que configuran este grupo, intentan explicar las correlaciones halladas entre absorción de fármacos y su lipofilia en términos difusionales dinámicos a partir de modelos definidos, expresables por ecuaciones concretas que serían representativas del proceso de absorción. En todas estas ecuaciones y modelos se asume la existencia de una barrera lipofílica única, situada entre el lugar de absorción y el plasma sanguíneo.

Dentro de las teorías compartimentales, distintos autores han aportado diversas variantes o matices al modelo central que sustenta esta teoría (10, 11, 12, 13, 14, 15), pero en definitiva, en todos los casos, las teorías de la difusión de solutos aplicadas a los modelos compartimentales, desde un punto de vista matemático, se concretan en una ecuación hiperbólica, que en el caso de la penetración transdérmica, tendría la siguiente expresión:

$$K_p = \frac{K_m \cdot P^n}{Q + P^n} \quad (\text{Ec. 1})$$

en la que,  $K_m$  es el valor máximo de la constante de penetración a través de la piel,  $n$  y  $Q$  son constantes y  $P$  un parámetro de lipofilia, generalmente, el coeficiente de reparto.

La ecuación 1, puede considerarse la expresión fundamental representativa de las teorías compartimentales y permite cuantificar la absorción pasiva de cualquier xenobiótico.

### **Teorías probabilísticas**

Las teorías o modelos probabilísticos fueron desarrollados, en principio, por HANSCH y colaboradores como resultado de sus investigaciones en el terreno de las correlaciones entre actividad farmacológica de los compuestos y su lipofilia, resumidos, a mediados de la pasada década, en dos completas revisiones sobre la cuestión (16, 17) y también monografías publicadas en libros de texto (18). Según estos autores, las correlaciones lipofilia-actividad pueden describirse, en algunos casos, mediante correlaciones lineales, pero mucho más frecuentemente, parabólicas, ambas de carácter doble

logarítmico.

### **Teorías bilineales**

Dentro de los modelos probabilísticos, y como alternativa a las correlaciones parabólicas, la más racional y también la más extendida es la que preconiza el modelo biofísico bilineal propuesto por KUBINYI (19, 20), que mantiene la idea de que las barreras que se oponen a la penetración de los xenobióticos son múltiples y alternadas (fases heterogéneas).

La ecuación general representativa del modelo bilineal, aplicada a la penetración transdérmica de fármacos, es la siguiente:

$$\log K_p = a + b \cdot \log P - \log(\phi P + 1) \quad (\text{Ec. } )$$

en la que  $K_p$  es la constante de permeabilidad transdérmica,  $P$  es un parámetro representativo de la lipofilia de los fármacos (generalmente el coeficiente de reparto octanol-agua) y  $\phi$  representa la relación de volúmenes existente entre las fases lipoideas y fases acuosas a lo largo de la distancia recorrida por el soluto a través del organismo.

Mediante el empleo de esta ecuación se obtienen gráficos doble logarítmicos constituidos por dos tramos lineales o menos simétricos (uno de ellos ascendente y otro descendente) y una porción parabólica que los une.

### **Teorías parabólicas**

La posibilidad de obtener correlaciones entre la constante de permeabilidad y el coeficiente de reparto (o parámetros asimilables al coeficiente de reparto), se basa en la teoría de HANSCH la cual preconiza, que el soluto debe atravesar, antes de acceder a la circulación general, una barrera compuesta por fases heterogéneas (capas hidrófilas y lipófilas alternadas). Puede asumirse que la piel posee una morfología que, como barrera de permeación de los fármacos, cumplimenta la teoría de HANSCH y, por consiguiente, no existiría, un coeficiente de reparto "límite" asintótico, sino otro "óptimo", definido por el elemento que se encuentra en el vértice de la parábola.

En todos los casos, la expresión representativa de la correlación entre parámetros de permeabilidad transdérmica y los de lipofilia, sería:

$$\log K_p = a + b \cdot \log P + c (\log P)^2 \quad (\text{Ec. } )$$

en la que  $K_p$  es la constante de permeabilidad transdérmica,  $a$ ,  $b$  y  $c$  son constantes y  $P$  el parámetro representativo de la lipofilia de los fármacos.

Con el fin de predecir las constantes de permeabilidad a partir de parámetros físico-químicos, especialmente parámetros representativos de la lipofilia ( $K'_w$  y  $P$ ) las funciones hiperbólica, parabólica y bilineal se ajustaron a los datos experimentales por regresión no lineal por mínimos cuadrados mediante un programa iterativo MULTI (cita de Yamaoka 1981), se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$K_p = K_m \frac{P^n}{(Q + P^n)} \quad (\text{Ec. 13})$$

$$\log K_p = a + b \log P + c (\log P)^2 \quad (\text{Ec. 14})$$

$$\log K_p = a + b \log P - c \log (P + 1) \quad (\text{Ec. 15})$$

donde  $K_m$  es la máxima constante de velocidad de penetración a través de la membrana,  $n$ ,  $Q$ ,  $a$ ,  $b$  y  $c$  son constantes para cada sistema dado y  $P$  es la relación de volúmenes entre las fases.

## 2.6 Justificación de los penetrantes empleados

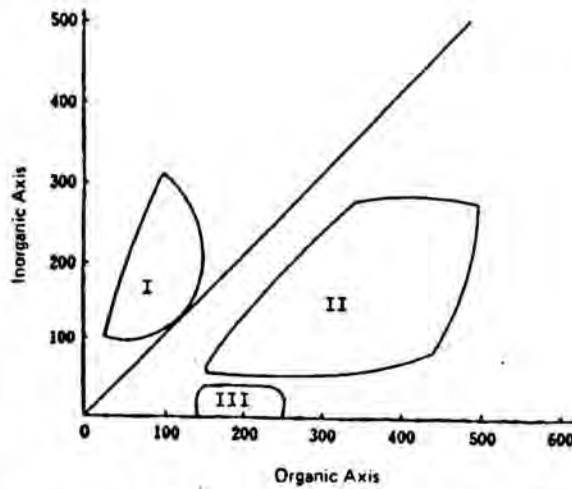
Es un hecho contrastado por la experiencia que la utilización de penetrantes, en muchos casos, aumenta la permeabilidad cutánea de los fármacos y disminuye el período de latencia (1, 2, 3). Se utilizan distintas sustancias como penetrantes, por ejemplo, solventes orgánicos (etanol, propilenglicol, dimetil sulfóxido, dimetil oacetamida, etc.), alquil sulfóxidos, ésteres de azúcares, tensoactivos, terpenos, etc. (4) y, se ha puesto de manifiesto, que sustancias con grupos polares en su molécula no poseen un elevado poder

**TABLA IV.2.- Valores de carácter orgánico e inorgánico .**

Sustituyente	caracter inorganico	Sustituyente (anfoterico)	caracter organico	caracter inorganico
=N-OH, -NH-CO-NH-	200	>SO <sub>2</sub>	40	110
=N-NH- -CO-NH-NH-	210	-CSSH	120	80
-CO-NH-	200	-CSOH, -COSH	80	80
-COOH	150	-NCS	90	75
Lactona	120	-NO <sub>2</sub>	70	70
-CO-O-CO-	110	-P<	20	70
-OH	100	-CSSR	130	50
-NH-NH- -O-CO-O-	80	-CSOR -COSR	80	50
-N< (caracter amino)	70	-NO	50	50
>CO	65	-N-NO <sub>2</sub> -	60	40
-COOR	60	-NC	40	40
>C=NH	50	-O-NO, -SH, >S	40	25
-N=N-	30	=S	50	10
-O-	20	-Cl	40	10
Benceno (nucleo)	15	Carbono disustituido	-10	0
Nucleos	10	Carbono terciario	-20	0
Doble enlace	3			
Triple enlace	2			

penetrante (5) o que sustancias que poseen grupos no polares aceleran la

penetración de sustancias lipólicas (5) y también que un mismo penetrante acelera la penetración de una sustancia y no ejerce acción sobre otra (6). Se ha desarrollado un intento de clasificación de los penetrantes utilizados con mayor profusión a fin de ordenarlos en distintos grupos (5). La referida clasificación se ha realizado en base de las distintas propiedades fisicoquímicas de los



**Figura IV.11.- Localización de los penetrantes.** I, solventes; II, penetrantes para sustancias hidrófilas; III, penetrantes para sustancias hidrófobas.

penetrantes, teniendo en cuenta sus características orgánicas e inorgánicas. Respecto a las primeras se consideran el número de átomos de carbono y respecto a las segundas el tipo o tipos de radicales inorgánicos que contiene la molécula. Se representan en un eje de coordenadas, en abscisas las características orgánicas de las sustancias cuantificándole un valor 20 por cada átomo de carbono y, en el eje de las ordenadas las características inorgánicas parámetro que se deduce del valor asignado a los sustituyentes inorgánicos tal como se detalla en la TABLA IV.2. Mediante este sistema, los penetrantes mayoritariamente utilizados se agrupan en tres áreas de acuerdo con el diagrama expuesto en la FIGURA IV.11. En la referida FIGURA, en el AREA I, de acuerdo con el sistema de clasificación empleado, se agrupan los penetrantes denominados solventes (dimetilsulfóxido, propilenglicol, 2 - pirrolidona, miristato de isopropilo, etc.). En el AREA II, se agrupan sustancias de tipo azona, alcohol laúrico, ácido oleico, etc. y, en el AREA III, se engloban sustancias que incrementan la penetración de principios activos con carácter lipófilo, tipo nonil alcoholes, diterpenos, etc.

En el presente estudio, se han seleccionado tres penetrantes situados en cada una de las áreas comentadas anteriormente. Se ha seleccionado el miristato de isopropilo como representante del AREA I, Es decir del área que engloba

a los "solventes". 1-dodecil hexahidro-2H-azepin-2-ona (AZONA) se ha utilizado como exponente del AREA II y el l-limoneno como representante del AREA III. El objetivo del estudio es doble, por una parte, estudiar la influencia de las propiedades fisicoquímicas de los penetrantes seleccionados, en base a la clasificación realizada, en la penetración cutánea de los fármacos ensayados y, por otro, dilucidar el tipo óptimo de penetrante en función de la lipofilia de los principios activos sometidos a estudio.

### **2.7 Metodología utilizada para la evaluación de la actividad de los penetrantes**

A fin de potenciar la capacidad de penetración cutánea de los fármacos, se usan distintas sustancias que actúan como penetrantes incrementando la cantidad de fármaco que atraviesa la piel y, por consiguiente, aumentando el rendimiento de la absorción percutánea de aquellos principios activos susceptibles de ser formulados en sistemas de administración transdérmica.

Puede considerarse, que los parámetros más representativos de la absorción percutánea de los fármacos son: el período de latencia, el flujo y la constante de permeabilidad.

Cuando se utilizan penetrantes, es posible conocer si el aumento que producen en la permeabilidad de los fármacos a través de la piel, es debido a variaciones inducidas por el penetrante sobre el período de latencia, el flujo o la constante de permeabilidad. El conocimiento de lo comentado anteriormente, permite obtener información acerca de la influencia de las características fisicoquímicas de los fármacos en su penetración transdérmica por una parte, y por otra, posibilita, en muchos casos, conocer el mecanismo de acción de las sustancias penetrantes.

De acuerdo con las teorías de la difusión (1) pueden hacerse las consideraciones que a continuación se detallan. La ecuación que define el período de latencia es la siguiente:

$$T_1 = \frac{L^2}{6D} \quad (\text{Ec.20})$$

Donde  $L^2$  es el espesor de la piel y  $D$  es el coeficiente de difusión del fármaco en el interior de la piel.

Por otra parte, el valor del flujo puede expresarse como sigue:

$$J = \frac{K_m \cdot D \cdot C_v}{L} \quad (\text{Ec.21})$$

Donde  $K_m$  es el coeficiente de reparto del fármaco entre el vehículo y la piel y,  $C_v$  es la concentración del fármaco en el vehículo.

En los estudios de permeación el coeficiente de reparto del fármaco entre el vehículo y la piel, cuando se trabaja en soluciones de fármaco a saturación, puede expresarse en términos de fracción de concentración molar en las respectivas fases. De acuerdo con este principio, la ecuación 21 puede escribirse:

$$J = \frac{X_p}{X_v} \cdot \frac{D \cdot C_v}{L} \quad (\text{Ec.22})$$

Donde  $X_v$  es la fracción de concentración molar de fármaco en el vehículo y,  $X_p$  es la fracción de concentración molar de fármaco en la piel.

En el caso de que no se trabaje con soluciones saturadas o, que se trabaje con soluciones saturadas con cantidad de fármaco en presencia la cual durante el transcurso del tiempo se va disolviendo en el vehículo en función de la cantidad de fármaco que permea; las fracciones de concentración molar, pueden sustituirse por los recíprocos de sus coeficientes de actividad en las respectivas fases. En base a este hecho, la ecuación 22 toma la

siguiente forma:

en la que de acuerdo con la ecuación

$$J = \frac{\gamma_v}{\gamma_p} \cdot \frac{D \cdot C_v}{L} \quad (\text{Ec.23})$$

$$K_m = \frac{\gamma_v}{\gamma_p} \quad (\text{Ec.24})$$

donde  $\gamma_v$  es el coeficiente de actividad del fármaco en el vehículo y  $\gamma_p$  es el coeficiente de actividad del fármaco en la piel.

Si los cambios de concentración de fármacos en el vehículo son muy pequeños durante la experiencia, puede escribirse :

$$\gamma_v = \frac{S_v}{C_v} \quad (\text{Ec.25})$$

y

$$\gamma_p = \frac{S_p}{C_p} \quad (\text{Ec.26})$$

siendo:  $S_v$  la solubilidad del fármaco en el vehículo,  $S_p$  la solubilidad del fármaco en la piel y  $C_p$  la concentración del fármaco en la piel.

Si no se conoce  $S_p$  y  $C_p$ , la ecuación 26 a partir de la ecuación 24 puede transformarse en:

A partir de las ecuaciones 25 y 27, se puede calcular el "índice relativo del coeficiente de actividad" del fármaco en presencia y ausencia de penetrante

$$\gamma_p = \frac{\gamma_v}{K_m} = \frac{\frac{S_v}{C_v}}{K_m} = \frac{S_v}{k_m \cdot C_v} \quad (\text{Ec.27})$$

( $\chi_r$ ). En efecto:

$$\chi_r = \frac{\left( \frac{\gamma_v}{\gamma_p} \right)_{\text{con penetrante}}}{\left( \frac{\gamma_v}{\gamma_p} \right)_{\text{sin penetrante}}} \quad (\text{Ec.28})$$

sustituyendo en esta ecuación los valores de  $\gamma_v$  y  $\gamma_p$  obtenidos en las ecuaciones 25 y 27, la ecuación 28 toma la siguiente expresión:

$$\chi_r = \frac{\left[ \frac{\frac{S_v}{C_v}}{K_m \cdot C_v} \right]_{\text{con penetrante}}}{\left[ \frac{\frac{S_v}{C_v}}{K_m \cdot C_v} \right]_{\text{sin penetrante}}} = \frac{\left[ \frac{S_v \cdot C_v \cdot K_m}{C_v \cdot S_v} \right]_{\text{con penetrante}}}{\left[ \frac{S_v \cdot C_v \cdot K_m}{C_v \cdot S_v} \right]_{\text{sin penetrante}}} = \frac{[K_m]_{\text{con penetrante}}}{[K_m]_{\text{sin penetrante}}} \quad (\text{Ec.29})$$

De la ecuación 29, no se conoce el valor de  $K_m$  (coeficiente de reparto del fármaco entre el vehículo y la piel), pero a partir de la ecuación parametrizada por OKAMOTO (Ec.7), se calcula el parámetro  $P_2$  que está directamente relacionado con  $K_m$ . En efecto:

$$P_2 = K_m \cdot L \quad (\text{Ec.30})$$

de donde:

$$K_m = \frac{P_2}{L} \quad (\text{Ec. 12})$$

Sustituyendo en la ecuación 29, el valor de  $K_m$  por su equivalente en la ecuación 31, se obtiene:

$$\chi = \frac{\left[ \frac{P_2}{L} \right]_{\text{con penetrante}}}{\left[ \frac{P_2}{L} \right]_{\text{sin penetrante}}} \quad (\text{Ec.32})$$

Asumiendo constante el espesor de la piel en el transcurso de la experiencia, la ecuación 32 se simplifica según la siguiente expresión:

$$\chi_r = \frac{[P_2]_{\text{con penetrante}}}{[P_2]_{\text{sin penetrante}}} \quad (\text{Ec.33})$$

Le ecuación 33 permite conocer el cambio relativo del coeficiente de actividad del fármaco entre el vehículo y la piel en ausencia y presencia de penetrante.

Por otra parte, la variación que ejercen los penetrantes en el período de latencia ( $T_l$ ), permite estimar, en cada caso, la difusibilidad del fármaco a través de la piel. En efecto, a partir de la ecuación 20, se puede obtener el "índice relativo del coeficiente de difusión" ( $D_r$ ) en presencia y ausencia de penetrante de acuerdo con la siguiente expresión:

$$D_r = \frac{[D]_{\text{con penetrante}}}{[D]_{\text{sin penetrante}}} = \frac{\left[ \frac{L^2}{6T_l} \right]_{\text{con penetrante}}}{\left[ \frac{L^2}{6T_l} \right]_{\text{sin penetrante}}} \quad (\text{Ec.34})$$

También en este caso, si se asume constante el espesor de la piel en el transcurso de la experiencia, la ecuación 34 se simplifica en:

$$D_r = \frac{[T]_{\text{sin penetrante}}}{[T]_{\text{con penetrante}}} \quad (\text{Ec.35})$$

La ecuación 35 permite conocer a partir del período de latencia determinado experimentalmente, la difusibilidad relativa del fármaco en ausencia y presencia de penetrante.

La influencia de los penetrantes sobre el valor del flujo, puede deducirse de la ecuación 23:

$$J = \frac{\gamma_v}{\gamma_p} \cdot \frac{D \cdot C_v}{L} \quad (\text{Ec.23})$$

De acuerdo con esta ecuación, las variaciones en el flujo dependerá de la relación del coeficiente de actividad del fármaco vehículo/piel, del coeficiente de difusión y de la concentración de fármaco en el vehículo, dado que, el espesor de la piel se asume constante.

La relación de flujos obtenida en presencia y ausencia de penetrantes, será indicativa de la acción de los promotores de la absorción percutánea sobre este parámetro. En base de lo expuesto anteriormente, se puede escribir:

$$J_r = \frac{[L]_{\text{con penetrante}}}{[L]_{\text{sin penetrante}}} = \frac{\left[ \frac{\gamma_v \cdot D \cdot C_v}{\gamma_p \cdot L} \right]_{\text{con penetrante}}}{\left[ \frac{\gamma_v \cdot D \cdot C_v}{\gamma_p \cdot L} \right]_{\text{sin penetrante}}} = \frac{\left[ \frac{\gamma_v \cdot D \cdot C_v}{\gamma_p} \right]_{\text{con penetrante}}}{\left[ \frac{\gamma_v \cdot D \cdot C_v}{\gamma_p} \right]_{\text{sin penetrante}}}$$

(Ec.36)

De acuerdo con la ecuación 28, la ecuación 36 toma la siguiente expresión:

$$J_r = \chi_r \frac{[U.C_v]_{con\ penetrante}}{[D.C_v]_{sin\ penetrante}} = \chi_r \cdot D_r \frac{[U_v]_{con\ penetrante}}{[C_v]_{sin\ penetrante}} \quad (Ec.37)$$

## 2.8 Métodos estadísticos.

### Ajustado de las funciones ensayadas

Para juzgar la bondad de los ajustados de las funciones representativas de los modelos hiperbólico, bilineal y parabólico a los resultados experimentales, se ha aplicado el criterio de información de AKAIKE (AIC) (21). De acuerdo con este criterio de comparación de modelos, se cumple:

$$AIC = n \cdot \ln (SSQ)^2 + 2P \quad (Ec. )$$

expresión en la que  $n$  equivale al número de términos ensayados,  $SSQ$  es la suma de cuadrados de residuales y  $P$  el número de parámetros de la ecuación. Se considera como más probable el ajustado que presenta un menor valor de  $AIC$  (o  $MICE$ , abreviatura de "minimun  $AIC$  estimation". Debe puntualizarse que el criterio de AKAIKE favorece siempre, en general, al modelo con menor número de parámetros de los que se comparan, de modo que, si después del análisis en cuestión, resulta seleccionado el modelo biofísico más complejo, existe la seguridad casi absoluta de que se trata estadísticamente del mejor de los estudiados.

### Comparación de medias

Para comparar los valores medios de los parámetros de permeación estudiados correspondientes a los fármacos ensayados, en el caso de que se presenten homogeneidad de varianzas (prueba de Barlett), se ha realizado el análisis de la varianza de una vía (ANOVA), seguido, si procede, de un test de comparación múltiple (test de Sheffé).

Si es necesario utilizar pruebas estadísticas no paramétricas, se ha empleado el test de KRUSKAL - WALLIS y a continuación, si procede, un test de comparación por pares de valores (U de Mann-Whitney).

### 3 Bibliografía

- 1.- Franz, T.J. "Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data". *J. Invest. Dermatol.* **1975**, *64*, 190.
- 2.- Bronaugh, R.L.; Steward, R.F. *J. Pharm. Sci.* **1986**, *75*, 487-491.
- 3.- Linden, G. *Ind. Aliment. Agric.* **1988**, *18*, 1247-1253.
- 4.- Horwitz, W. "Analytical measurement: How do you results are right" ACS Symposium Series **160**, American Chemical Society, **1981**, cap. 24, Washington D.C.
- 5.- Buttner, J. *Clin. Chem.* **1976**, *22*, 1922-1932.
- 6.- Ingle, J.D. *J. Chem. Educ.* **1974**, *51*, 100-105.
- 7.- Crank, J. *The Mathematics of Diffusion*; Oxford University: London, **1975**, pág. 42-61.
- 8.- Foreman, M.I.; Kelly, I. *Br. J. Dermatol.* **1976**, *95*, 265-270.
- 9.- Okamoto, H.; Komatsu, H.; Hasida, M.; Sezaki, H. *Int. J. Pharm.* **1986**, *30*, 34-35.
- 10.- Gaspari, F.; Bonaty, M. *J. Pharm. Pharmacol.* **1987**, *39*, 252- 260.
- 11.- Yamaoka, K.; Taniwara, Y.; Nakagawa, T.; Uno, T. *J. Pharmacobiodyn.* **1981**, *4*, 879-885.
- 12.- Flynn, G.L.; Steward, B. *Drug Develop. Res.* **1988**, *13*, 169-185.
- 13.- Flynn, G.L.; Yalkowsky, S.H. *J. Pharm. Sci.* **1972**, *61*, 838-842.
- 14.- MEYER, H. *Arch. Exp. Pthol. Pharmacol.* **42**, 109-114 (1899).

- 15.- OVERTON, E. "*Studien über Narköse*". Ed. Fisher. Jena (1901).
- 16.- BRODIE, B.B. "*The physiological equivalence of drug dosage forms*" Dep. National Health and Welfare. Ottawa (1969).
- 17.- HOGBEN, C.A.M., TOCCO, D.J., BRODIE, B.B., SCHANKER, L.S. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 125, 275-282 (1970).
- 18.- SCHANKER, L.S., TOCCO, D.J., BRODIE, B.B., HOGBEN, C.A.M. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 123, 81-88 (1958).
- 19.- SCHANKER, L.S. *J.Med.Pharm. Chem.* 2, 343-359 (1960).
- 20.- CROUTHAMEL, W.G., TAN, G.H., DITTERT, L.W., DOLUISIO, J.T. *J.Pharm. Sci.* 60, 1160-1163 (1971).
- 21.- LANMAN, R.C., STERMSTERFER, C.E., SCHANKER, L.S. *Xenobiotica.* 1, 613-619 (1971).
- 22.- MORISHITA, T., YAMAKAZI, M., YATA, N., KAMADA, A. *Chem. Pharm. Bull.* 21, 2309-2322 (1973).
- 23.- KOIZUMI, T., ARITA, Y., KAKEMI, K. *Chem. Pharm. Bull.* 12, 413-427 (1964).
- 24.- KAKEMI, K., ARITA, T., HORI, R., KONISHI, R. *Chem. Pharm. Bull.* 15, 1534-1539 (1967).
- 25.- SUZUKI, A., HIGUCHI, W.I., HO, N.F.H. *J.Pharm.Sci.* 59, 644-651 (1970).
- 26.- SUZUKI, A., HIGUCHI, W.I., HO, N.F.H. *J.Pharm. Sci.* 59, 651-660 (1970).
- 27.- WAGNER, J.G., SEDMAN, A.J. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 1, 23-50 (1973).

- 28.- WAGNER, J.G. *"Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics"* Drug Intelligence Publications. Hamilton (1979).
- 29.- HANSCH, C., DUNN, W.J. *J. Pharm. Sci.* 61, 1-19 (1972).
- 30.- HANSCH, C., CLAYTON, J.M. *J. Pharm. Sci.* 62, 1-21 (1973).
- 31.- HANSCH, C. *"Drug Design"* Vol. I. Academic Press. Londres (1971).
- 32.- KUBINYI, H. *Arzneim. Forsch.* 26, 1991-1997 (1976).
- 33.- KUBINYI, H., KEHRHANN, O.H. *Arzneim. Forsch.* 28, 598-601 (1978).
- 34.- AKAIKE, H. *Mathem. Sci.* 14, 5-9 (1976).

## 1 Validación de la técnica analítica

### 1.1 Validación de la técnica analítica por CLAE.

#### linealidad.

En las TABLAS V.1 a V.10 se expresan los valores de la pendiente, de la ordenada al origen (acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar), y del coeficiente de correlación, acompañado de su significación, de las rectas de calibrado, obtenidas en la validación intradia como en la interdia correspondientes a las dihidropiridinas ensayadas.

En las FIGURAS V.1 a V.5 se representan gráficamente las rectas de calibrado medias correspondientes a los antagonistas del calcio estudiados.

**TABLA V.1.-** *Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica intradia del felodipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.*

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación
1	0.4052 ± 0.0037	0.0122 ± 0.0038	0.9997 131.89
2	0.3973 ± 0.0049	0.0015 ± 0.0050	0.9994 79.60
3	0.3998 ± 0.0071	0.0272 ± 0.0087	0.9989 56.47
4	0.4146 ± 0.0075	0.0166 ± 0.0090	0.9988 56.96
5	0.4123 ± 0.0072	0.0025 ± 0.0087	0.9989 57.11

**TABLA V.2.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica interdia del felodipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.4016 ± 0.0036	0.0216 ± 0.0045	0.9997	109.33
2	0.3982 ± 0.0028	0.0142 ± 0.0035	0.9998	142.38
3	0.3998 ± 0.0071	0.0272 ± 0.0087	0.9989	56.47
4	0.3997 ± 0.0063	0.0183 ± 0.0781	0.9991	63.44
5	0.3940 ± 0.0026	0.0092 ± 0.0033	0.9998	149.91

**TABLA V.3.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica intradia del nicardipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.4926 ± 0.0086	0.0224 ± 0.0086	0.9989	57.25
2	0.5026 ± 0.0121	0.0089 ± 0.0121	0.9979	41.54
3	0.5017 ± 0.0171	0.0272 ± 0.0087	0.9989	56.47
4	0.4899 ± 0.0110	0.0135 ± 0.0168	0.9982	44.34
5	0.4782 ± 0.0126	0.0410 ± 0.0128	0.9975	37.76

**TABLA V.4.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica interdia del nicardipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.4922 ± 0.0087	0.0103 ± 0.0088	0.9989	56.62
2	0.4885 ± 0.0071	0.0149 ± 0.0072	0.9993	69.23
3	0.4893 ± 0.0088	0.0329 ± 0.0088	0.9988	55.43
4	0.4691 ± 0.0040	0.0196 ± 0.0042	0.9997	117.95
5	0.4979 ± 0.0086	0.0114 ± 0.0082	0.9989	58.37

**TABLA V.5.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica intradia del nifedipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.3237 ± 0.0048	-0.0060 ± 0.0075	0.9992	68.14
2	0.3104 ± 0.0027	-0.0094 ± 0.0044	0.9997	114.03
3	0.3047 ± 0.0039	0.0072 ± 0.0065	0.9994	77.53
4	0.3075 ± 0.0026	-0.0163 ± 0.0044	0.9997	116.97
5	0.2922 ± 0.0077	-0.0123 ± 0.0136	0.9975	37.73

**TABLA V.6.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica interdia del nifedipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.3064 ± 0.0058	-0.0098 ± 0.0097	0.9987	52.39
2	0.3000 ± 0.0039	-0.0194 ± 0.0067	0.9994	77.37
3	0.2847 ± 0.0068	-0.0212 ± 0.0123	0.9980	42.06
4	0.3045 ± 0.0030	-0.0220 ± 0.0051	0.9997	101.04
5	0.3144 ± 0.0020	-0.0136 ± 0.0033	0.9999	154.33

**TABLA V.7.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica intradia del nimodipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.3349 ± 0.0052	0.0033 ± 0.0079	0.9991	63.84
2	0.3422 ± 0.0053	0.0109 ± 0.0078	0.9991	64.07
3	0.3351 ± 0.0072	0.0114 ± 0.0107	0.9984	46.69
4	0.3406 ± 0.0080	0.0299 ± 0.0114	0.9981	42.78
5	0.3300 ± 0.0103	0.0170 ± 0.0161	0.9966	32.08

**TABLA V.8.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica interdia del nimodipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.3283 ± 0.0053	-0.0015 ± 0.0081	0.9991	62.44
2	0.3340 ± 0.0052	0.0060 ± 0.0078	0.9992	64.64
3	0.3306 ± 0.0052	0.0077 ± 0.0078	0.9991	64.20
4	0.3311 ± 0.0033	0.0113 ± 0.0049	0.9997	101.60
5	0.3314 ± 0.0035	0.0082 ± 0.0052	0.9996	96.01

**TABLA V.9.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica intradia del nitrendipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

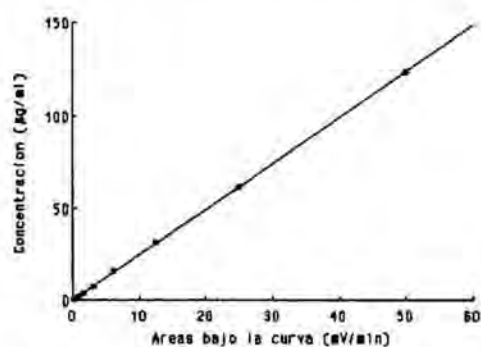
Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	0.3664 ± 0.0050	0.0252 ± 0.0071	0.9993	73.41
2	0.3741 ± 0.0076	0.0389 ± 0.0108	0.9985	49.15
3	0.3790 ± 0.0054	0.0396 ± 0.0076	0.9993	70.18
4	0.3539 ± 0.0060	0.0482 ± 0.0091	0.9990	58.93
5	0.3821 ± 0.0043	-0.0343 ± 0.0059	0.9996	89.77



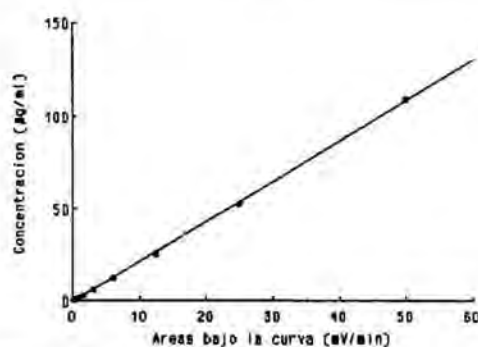
## Resultados

**TABLA V.10.-** Valores de la pendiente y de la ordenada al origen acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, en la validación analítica interdia del nitrendipino. Se consignan también el valor del coeficiente de correlación así como su significación.

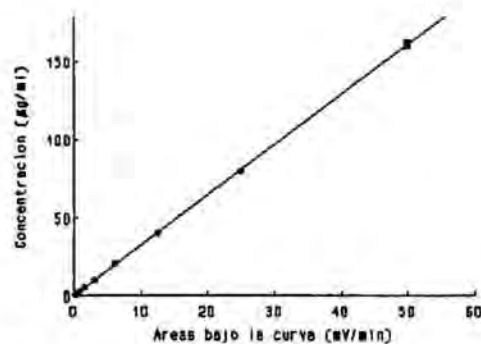
Replicado	Pendiente	Ordenada al origen	Coef. de correlación	
1	$0.3572 \pm 0.0054$	$-0.0339 \pm 0.0079$	0.9992	66.67
2	$0.3493 \pm 0.0052$	$0.0397 \pm 0.0079$	0.9992	67.54
3	$0.3566 \pm 0.0080$	$-0.0615 \pm 0.0122$	0.9983	44.71
4	$0.3936 \pm 0.0067$	$0.0130 \pm 0.0087$	0.9989	57.31
5	$0.3693 \pm 0.0031$	$0.0310 \pm 0.0044$	0.9997	118.33



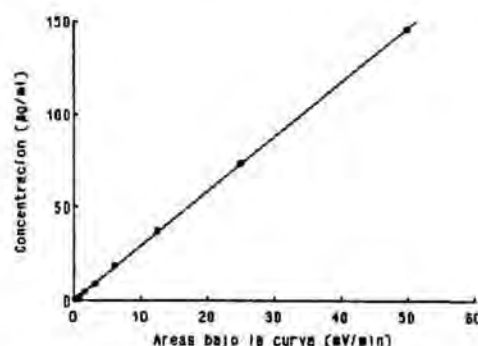
**Figura V.1.-** Recta de calibrado promedio correspondiente al felodipino ( $n=10$ ).



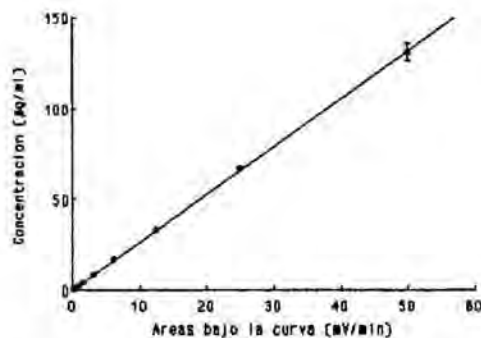
**Figura V.2.-** Recta de calibrado promedio correspondiente al nicardipino ( $n=10$ ).



**Figura V.3.-** Recta de calibrado promedio correspondiente al nifedipino ( $n=10$ ).



**Figura V.4.-** Recta de calibrado promedio correspondiente al nimodipino ( $n=10$ ).



**Figura V.5.-Recta de calibrado promedio correspondiente al nitrendipino ( $n=10$ ).**

### **Precisión y exactitud.**

De acuerdo con lo expuesto en el capítulo de material y métodos se ha determinado la precisión y exactitud de la metodología ( $CV\%$ ) y su exactitud ( $E\%$ ) para las sustancias ensayadas.

El método resultó ser exacto y preciso con un coeficiente de variación comprendido entre  $\%$  y  $\%$  y un error relativo comprendido entre  $\%$  y  $\%$ .

En las TABLAS V.10 a V.20 se detallan los resultados obtenidos respecto a la exactitud y precisión intradía como interdía de la técnica analítica utilizada en la estimación de las concentraciones de dihidropiridinas.

**TABLA V.11.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metódica analítica intradia del felodipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	49.82	25.12	12.64	6.38	3.14	1.54	0.758	0.381	0.199
	48.68	24.58	12.19	6.12	3.15	1.65	0.800	0.391	0.192
	49.92	25.28	12.59	6.60	3.18	1.50	0.731	0.371	0.203
	50.73	25.20	12.90	6.58	3.06	1.52	0.724	0.373	0.203
	50.30	25.07	13.08	6.55	3.051	1.52	0.729	0.376	0.202
$\bar{X}$	49.89	25.05	12.68	6.45	3.11	1.54	0.748	0.378	0.200
S.D	0.77	0.28	0.34	0.20	0.06	0.06	0.032	0.008	0.005
CV%	1.53	1.12	2.68	3.10	1.93	3.90	4.28	2.12	2.50
E%	0.04	-0.20	-1.44	-3.20	0.48	1.30	5.61	3.17	-2.56

**TABLA V.12.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metódica analítica interdia del felodipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	49.44	24.96	12.80	6.38	3.11	1.58	0.748	0.383	0.198
	49.70	24.67	12.79	6.25	3.14	1.57	0.759	0.385	0.197
	50.24	24.96	13.13	6.42	3.11	1.52	0.734	0.374	0.202
	49.64	24.89	12.63	6.39	3.15	1.56	0.765	0.376	0.199
	48.36	24.79	12.64	6.39	3.13	1.57	0.778	0.391	0.194
$\bar{X}$	49.48	24.85	12.79	6.37	3.13	1.56	0.757	0.382	0.198
S.D	0.69	0.12	0.20	0.07	0.02	0.02	0.017	0.007	0.003
CV%	1.39	0.48	1.56	1.10	0.64	1.28	2.246	1.832	1.515
E%	1.04	0.60	-2.32	-1.92	-0.16	0.00	4.177	2.051	-1.530

**TABLA V.13.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodica analítica intradia del nicardipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	53.84	26.07	12.19	6.16	3.02	1.50	0.756	0.382	0.199
	54.93	26.26	12.21	5.82	3.00	1.46	0.778	0.400	0.194
	54.48	26.62	12.06	6.2	2.86	1.49	0.766	0.385	0.199
	53.77	25.46	12.58	6.35	3.13	1.41	0.743	0.371	0.204
	52.80	25.26	12.08	6.46	3.14	1.60	0.706	0.351	0.208
$\bar{X}$	53.96	25.93	12.22	6.2	3.03	1.49	0.750	0.378	0.201
S.D	0.81	0.56	0.21	0.24	0.11	0.07	0.028	0.018	0.005
CV%	1.50	2.16	1.72	3.87	3.63	4.7	3.733	4.762	2.488
E%	-7.92	3.72	2.24	0.80	3.04	4.49	5.06	3.077	-3.141

**TABLA V.14.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica inter día del nicardipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	53.42	26.33	12.06	6.00	2.98	1.54	0.783	0.384	0.197
	53.07	25.66	12.26	6.21	3.05	1.55	0.753	0.376	0.200
	52.22	25.90	12.64	6.34	3.06	1.50	0.747	0.366	0.204
	50.63	25.17	12.37	6.12	3.19	1.6	0.761	0.381	0.199
	53.08	25.92	12.53	6.30	2.99	1.47	0.750	0.390	0.199
$\bar{X}$	52.48	25.80	12.37	6.19	3.05	1.53	0.759	0.379	0.200
S.D	1.13	0.43	0.23	0.13	0.08	0.05	0.014	0.009	0.003
CV%	2.15	1.65	1.84	2.23	2.75	3.26	1.794	2.308	1.538
E%	-4.97	-3.20	1.04	0.96	2.27	1.92	2.692	2.82	-2.564

**TABLA V.15.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metódica analítica intradia del nifedipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	50.02	24.69	12.31	6.47	3.04	1.56	0.780	0.400	0.192
	52.53	25.50	12.13	6.23	2.90	1.58	0.790	0.392	0.195
	48.38	24.22	12.06	6.52	3.25	1.56	0.784	0.394	0.193
	49.29	24.32	12.58	6.31	3.05	1.60	0.799	0.393	0.193
	47.93	23.93	11.64	6.19	3.03	1.69	0.835	0.417	0.183
$\bar{X}$	49.63	24.53	12.14	6.34	3.05	1.60	0.798	0.399	0.191
S.D	1.81	0.60	0.346	0.14	0.12	0.05	0.022	0.010	0.005
CV%	3.65	2.47	2.85	2.30	4.09	3.38	2.757	0.251	2.618
E%	0.74	1.87	2.85	-1.50	2.27	-2.44	-2.308	-2.308	2.051

**TABLA V.16.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdia del nifedipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	49.05	23.98	12.34	6.65	3.05	1.68	0.750	0.376	0.199
	49.59	23.84	12.05	6.28	3.18	1.60	0.811	0.397	0.190
	47.19	23.43	11.9	6.32	3.10	1.68	0.835	0.403	0.187
	49.11	24.07	12.47	6.25	3.11	1.61	0.800	0.398	0.191
	50.82	25.03	12.10	6.34	3.13	1.55	0.779	0.395	0.194
$\bar{X}$	49.15	24.07	12.17	6.37	3.11	1.62	0.795	0.394	0.192
S.D	1.30	0.59	0.23	0.16	0.047	0.06	0.032	0.010	0.005
CV%	2.66	2.45	1.89	2.53	1.51	3.45	4.025	2.538	2.604
E%	1.70	3.72	2.62	-1.89	0.35	-4.10	1.923	-1.026	1.538

**TABLA V.17.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodica analítica intradía del nimodipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	47.72	24.20	12.00	6.24	3.21	1.66	0.803	0.392	0.191
	48.64	24.55	12.47	6.32	3.05	1.69	0.767	0.380	0.196
	48.27	24.46	12.41	6.29	3.05	1.69	0.768	0.394	0.193
	48.75	24.37	12.53	6.34	3.27	1.57	0.773	0.382	0.197
	49.12	24.64	12.74	6.27	3.28	1.53	0.760	0.386	0.197
$\bar{X}$	48.50	24.44	12.43	6.29	3.17	1.63	0.774	0.387	0.195
S.D	0.531	0.169	0.271	0.04	0.12	0.07	0.017	0.006	0.003
CV%	1.10	0.69	2.18	0.63	3.63	4.55	2.96	1.55	1.54
E%	3.00	2.24	0.56	-0.67	-1.50	-4.36	0.77	0.77	0.00

**TABLA V.18.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodica analítica interdia del nimodipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	48.59	24.58	12.46	6.31	3.05	1.69	0.753	0.391	0.195
	49.39	25.03	12.71	6.59	3.01	1.60	0.729	0.383	0.199
	48.82	24.87	12.79	6.52	2.90	1.68	0.731	0.380	0.199
	48.78	25.03	12.90	6.34	3.22	1.63	0.687	0.372	0.204
	48.47	23.90	12.01	5.92	2.93	1.64	0.875	0.421	0.181
$\bar{X}$	48.81	24.68	12.57	6.37	3.02	1.65	0.755	0.389	0.196
S.D	0.35	0.474	0.354	0.261	0.12	0.04	0.071	0.019	0.009
CV%	0.73	1.92	2.81	4.12	4.17	2.25	9.40	4.88	4.592
E%	2.38	1.27	-0.56	-1.44	3.30	-5.45	3.20	0.26	-0.51

**TABLA V.19.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metódica analítica intradía del nitrendipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	49.60	26.23	12.80	6.49	3.04	1.46	0.737	0.395	0.198
	48.15	24.72	12.37	6.29	3.19	1.60	0.793	0.386	0.194
	46.88	24.66	12.44	6.17	3.11	1.63	0.803	0.396	0.191
	47.69	24.40	12.11	6.21	3.01	1.65	0.821	0.414	0.187
	48.69	25.12	12.37	6.16	3.03	1.56	0.817	0.411	0.188
$\bar{X}$	48.20	25.03	12.42	6.26	3.08	1.58	0.794	0.400	0.192
S.D	1.02	0.72	0.24	0.14	0.07	0.08	0.034	0.012	0.005
CV%	2.13	2.88	2.00	2.17	2.41	4.75	3.00	3.00	2.60
E%	3.60	-0.10	0.66	-0.22	1.57	-1.28	-2.56	-2.56	1.54

**TABLA V.20.-Concentraciones teóricas y experimentales correspondientes a cada replicado en la validación de la metodología analítica interdia del nitrendipino. Se acompañan los valores medios, desviación estándar, coeficiente de variación y error relativo.**

CONCENTRACIONES TEORICAS									
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES ESTIMADAS									
	47.18	25.21	12.59	6.56	3.13	1.62	0.784	0.366	0.200
	49.00	25.37	12.41	6.34	3.14	1.50	0.780	0.409	0.191
	49.90	23.88	12.11	6.36	3.26	1.62	0.759	0.405	0.191
	47.91	24.18	12.91	6.46	3.21	1.60	0.802	0.397	0.191
	48.58	24.13	11.55	6.04	3.27	1.69	0.794	0.406	0.188
$\bar{X}$	48.51	24.61	12.11	6.35	3.20	1.61	0.784	0.397	0.192
S.D	1.038	0.764	0.41	0.20	0.07	0.07	0.016	0.018	0.005
CV%	2.1	3.10	3.39	3.07	2.03	4.23	2.04	4.53	2.60
E%	2.98	1.56	3.09	-1.60	-2.46	-2.95	-0.51	-1.79	1.54

## Resultados

### **Sensibilidad analítica.**

La sensibilidad analítica de cada una de las concentraciones utilizadas en la confección de las rectas de calibrado se detalla en la TABLA V.21.

**TABLA V.21.-** Sensibilidad analítica para cada una de las concentraciones utilizadas en la obtención de las rectas de calibrado correspondientes a los antagonistas del calcio ensayados.

FARMACO	CONCENTRACION (mg/ml)								
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.195
FELODIPINO	1.651	2.841	4.035	8.427	10.904	14.798	25.111	55.245	165.73
NICARDIPINO	1.752	3.168	2.522	3.805	7.010	12.439	35.172	44.34	135.99
NIFEDIPINO	1.370	2.495	2.678	3.770	5.847	8.963	17.085	36.047	72.896
NIMODIPINO	2.079	5.620	4.732	7.603	6.762	14.542	14.542	35.662	119.82
NITRENDIPINO	0.6279	2.112	2.543	3.211	4.791	7.381	16.462	30.181	41.155

### **1.2 Validación de la técnica analítica por centelleo líquido.**

En nuestras condiciones experimentales la técnica seguida puede considerarse operativa a juzgar por el ajustado obtenido mediante el método de los splines entre la relación de canales y la eficiencia detallada en el capítulo IV de esta Memoria.

## **2 Parametros físico-químicos de los fármacos ensayados**

### **2.1 Solubilidad en etanol al 50%**

En la TABLA V.22 se detallan los valores, individuales así sus correspondientes valores promedio acompañados de sus desviaciones estándar, obtenidos en la determinación de la solubilidad de las dihidropiridinas en etanol al 50% a 37°C.

**TABLA V.22.-**Valores individuales obtenidos en la determinación de la solubilidad de los antagonistas del calcio detallados en etanol al 50%, acompañados de sus valores medios y su correspondiente desviación estándar.

FARMACO	SOLUBILIDAD (mg/ml)			
	1	2	3	$\bar{X} \pm S.D$
FELODIPINO	4.74	3.83	5.20	4.59 $\pm$ 0.70
NICARDIPINO	18.04	17.75	17.82	17.87 $\pm$ 0.15
NIFEDIPINO	4.87	4.79	4.83	4.83 $\pm$ 0.04
NIMODIPINO	2.43	2.52	2.73	2.56 $\pm$ 0.15
NITRENDIPINO	3.00	3.03	3.04	3.02 $\pm$ 0.02

### 2.3 Coeficiente de reparto aparente octanol/agua

En la TABLA V.23 se detallan los valores, individuales así como los correspondientes valores promedio acompañados de sus desviaciones estándar, obtenidos del coeficiente de reparto *n*-octanol/agua de los antagonistas del calcio.

**TABLA V.23.-**Valores individuales y promedios de los coeficientes de reparto *n*-octanol/agua obtenidos a 37°C.

FARMACO	COEFICIENTE DE REPARTO					
	1	2	3	4	5	$\bar{X} \pm S.D$
Felodipino	7878.2	5197.8	9037.4	5511.9	8985.2	7322.1 $\pm$ 1858.0
Nicardipino	6585.0	4267.0	8258.4	7914.2	5700.4	6545.0 $\pm$ 1637.0
Nifedipino	1381.6	1615.5	1232.9	1295.3	1410.7	1387.2 $\pm$ 145.7
Nimodipino	12635.0	9496.0	8658.6	10506.4	12504.5	10760.1 $\pm$ 1777.4
Nitrendipino	10654.0	8630.7	9539.6	11099.2	8186.0	9621.9 $\pm$ 1254.9

## 2.4 Factor de capacidad cromatográfico extrapolado a 100% de agua en la composición del eluyente

En la TABLA V.24 se detallan los valores, individuales así como los correspondientes valores promedio acompañados de sus desviaciones estándar, de los factores de capacidad cromatográficos extrapolados a 100% de agua en la composición del eluyente obtenidos para los fármacos detallados.

**TABLA V.24.-** Valores individuales y promedio de los factores de capacidad cromatográfica extrapolados a 100% de agua en la composición de la fase móvil ( $K'_w$ ).

FARMACO	$K'_w$			
	1	2	3	X ± S.D
FELODIPINO	2627.27	2603.4	2612.5	2614.3 ± 11.9
NICARDIPINO	160.5	154.2	153.3	156.0 ± 3.9
NIFEDIPINO	191.4	186.7	187.7	188.6 ± 2.5
NIMODIPINO	1700.1	1688.3	1699.0	1695.8 ± 6.5
NITRENDIPINO	898.1	886.9	888.6	891.2 ± 6.0

## 3 Estudios de permeación.

### 3.1 Estudios de permeación en ausencia de penetrantes

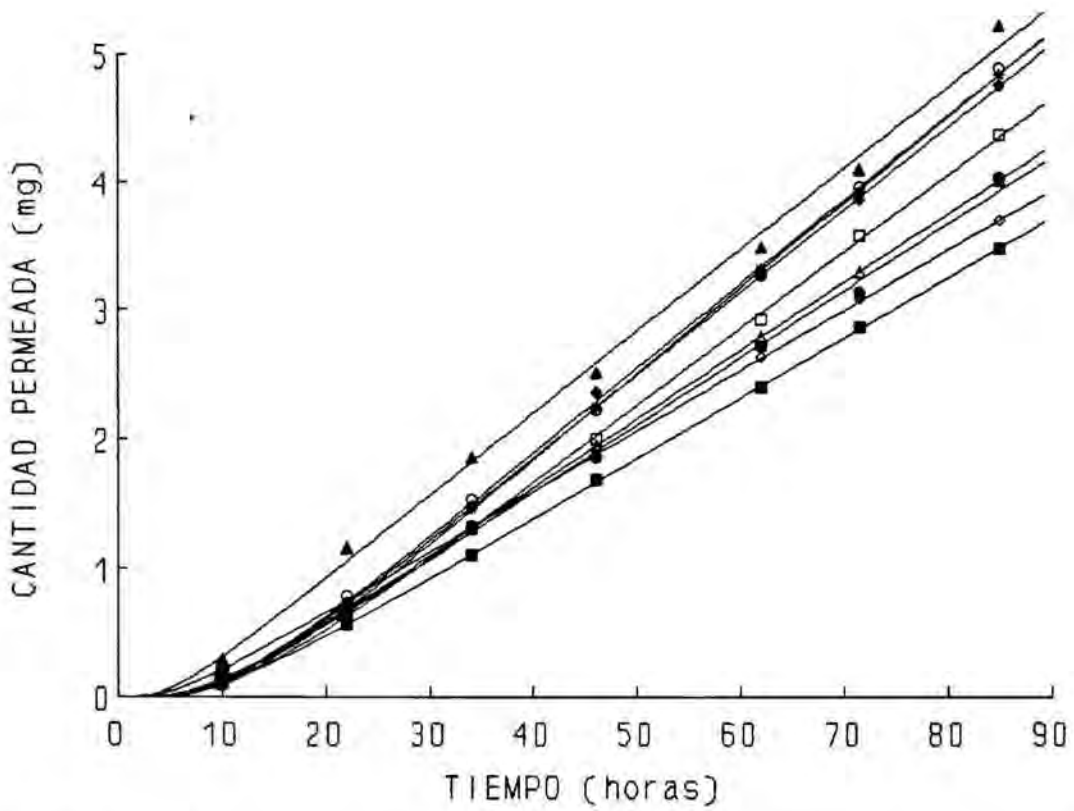
Los valores individuales y promedio, acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, correspondientes a las cantidades permeadas acumuladas a cada tiempo de toma de muestra para cada uno de los antagonistas del calcio ensayados se expresan en las TABLAS V.25 a V.30.

En las tablas V.31 a V.35 se encuentran reflejados los valores de los parámetros de permeación  $P_1$  y  $P_2$ , la constante de permeación ( $K_p$ ), el flujo (J), el periodo de latencia (T) y la cantidad permeada las primeras 24 h ( $Q_{24}$ ), así como sus valores promedio acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar.

En las FIGURAS V.5 a V.10 se encuentran representadas las curvas individuales correspondientes a las cantidades permeadas acumuladas en función del tiempo, para las farmacos ensayados. En la FIGURA V.11 se encuentran representadas las curvas promedio de permeación para todos los fármacos estudiados.

**TABLA V.25.-** Cantidades permeadas acumuladas de felodipino en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celula, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

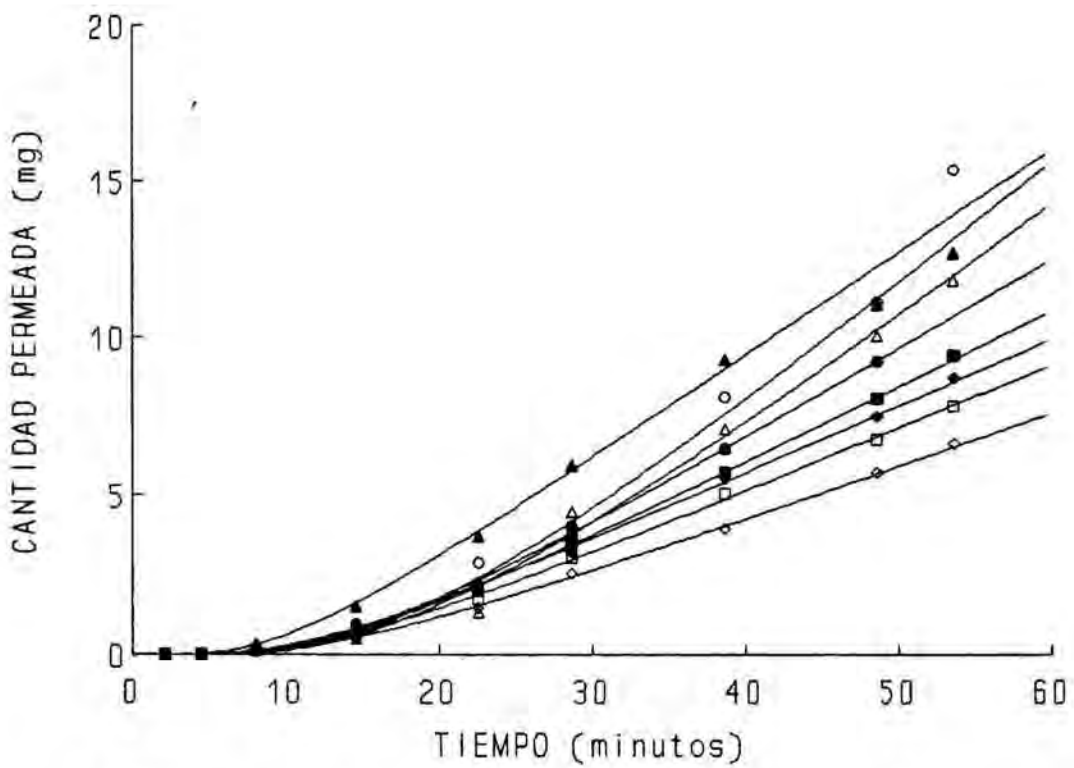
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)									X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	Celula 9	
10.05	0.2006	0.1449	0.1032	0.1278	0.2925	0.1537	0.1032	0.2226	0.1117	0.1622 ± 0.0644
22.10	0.6509	0.7938	0.5655	0.6642	1.1607	0.6801	0.7072	0.7403	0.6886	0.7390 ± 0.1700
34.10	1.3295	1.5314	1.1021	1.3121	1.8537	1.3152	1.4826	1.3222	1.4592	1.4120 ± 0.2082
46.10	1.8602	2.2239	1.6869	1.9989	2.5099	1.9446	2.3575	1.8704	2.2394	2.0769 ± 0.2691
62.00	2.7115	3.2902	2.3940	2.9245	3.4778	2.7867	3.2568	2.6303	3.3060	2.9753 ± 0.3716
71.45	3.1268	3.9574	2.8625	3.5747	4.0957	3.2897	3.8618	3.0819	3.9207	3.5301 ± 0.4520
85.00	4.0272	4.8938	3.4703	4.3634	5.2237	4.0083	4.7573	3.6928	4.8371	4.3638 ± 0.6008



**Figura V.6.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas acumuladas en individuales en función del tiempo, correspondientes al felodipino.

**TABLA V.26.-** Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las células, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

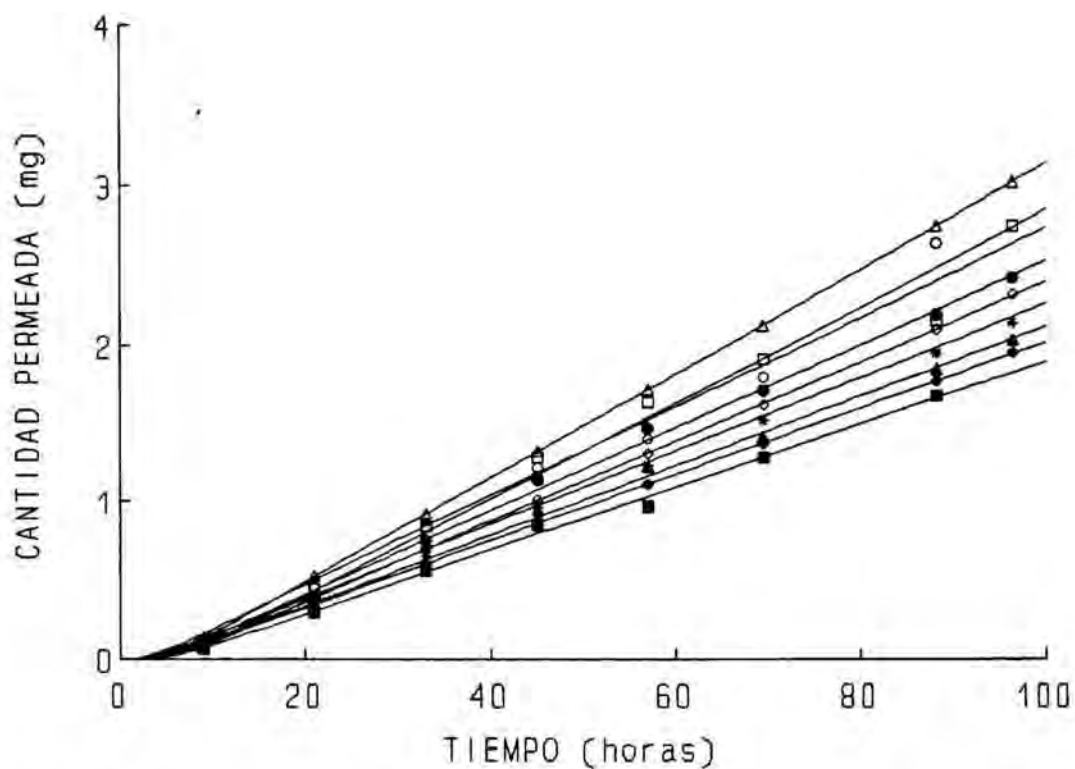
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)								X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	
2.16	0.0000	0.0000	0.0150	0.0042	0.0026	0.0024	0.0031	0.0000	0.034 ± 0.050
4.50	0.0186	0.0283	0.0617	0.0295	0.0117	0.0068	0.0255	0.0030	0.0231 ± 0.0185
8.08	0.1678	0.2079	0.3630	0.2248	0.1506	0.1284	0.1816	0.1059	0.1913 ± 0.0797
14.58	0.7910	0.9582	1.4975	0.4939	0.7597	0.6676	0.9198	0.5491	0.8296 ± 0.3150
22.58	2.1520	2.8579	3.6850	1.3437	1.9842	1.7408	2.0881	1.4700	2.1652 ± 0.7715
28.66	4.0028	3.2148	5.9361	4.4591	3.6152	3.0198	3.3574	2.5453	3.7688 ± 1.0547
38.66	6.4434	8.1181	9.2927	7.0677	5.7191	5.0334	5.5286	3.9465	6.3937 ± 1.7270
48.58	9.2359	11.1105	12.0551	10.0520	8.0679	6.7536	7.4840	5.7025	8.5141 ± 2.4508



**Figura V.7.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas acumuladas en individuales en función del tiempo, correspondientes al nicardipino.

**TABLA V.27.-** Cantidades permeadas acumuladas de nifedipino en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celula, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

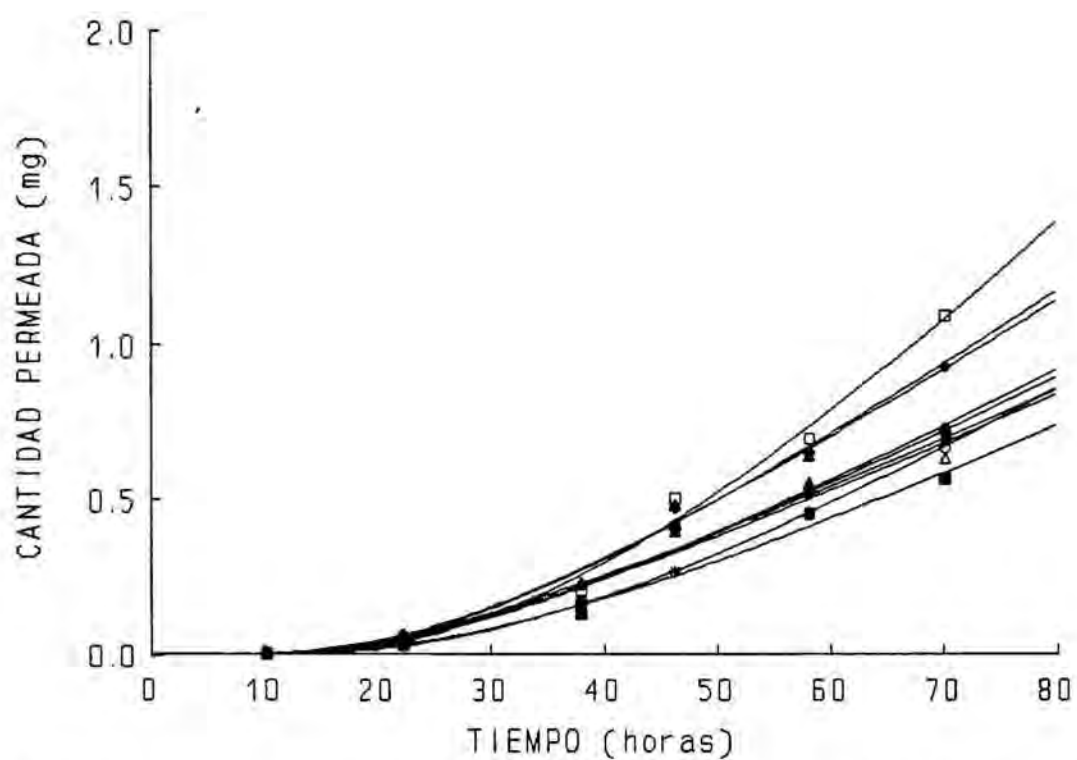
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)									X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	Celula 9	
9.00	0.1120	0.1104	0.0675	0.1147	0.0924	0.1346	0.0943	0.0951	0.1213	0.1047 ± 0.0197
21.00	0.3831	0.4516	0.2937	0.4430	0.3190	0.5228	0.3481	0.3876	0.3987	0.3942 ± 0.0710
33.00	0.7342	0.8290	0.5556	0.8335	0.6157	0.9143	0.5975	0.6928	0.6724	0.7161 ± 0.1217
45.16	1.1333	1.2091	0.8421	1.2762	0.9382	1.3178	0.8578	1.0061	0.9579	1.0589 ± 0.1794
57.00	1.4661	1.3970	0.9619	1.6335	1.2182	1.7086	1.1054	1.3024	1.2303	1.3359 ± 0.2417
69.50	1.7056	1.7941	1.2795	1.9059	1.4049	2.1246	1.3670	1.6167	1.5163	1.6350 ± 0.2759
88.25	2.1896	2.6376	1.6726	2.1563	1.8469	2.7467	1.7681	2.0995	1.9504	2.1186 ± 0.3699
96.50	2.4211	-	-	2.7452	2.0337	3.0197	1.9500	2.3161	2.1408	2.3752 ± 0.3895



**Figura V.8.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas acumuladas en individuales en función del tiempo, correspondientes al nifedipino.

**TABLA V.28.-** Cantidades permeadas acumuladas de nimodipino en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las células, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

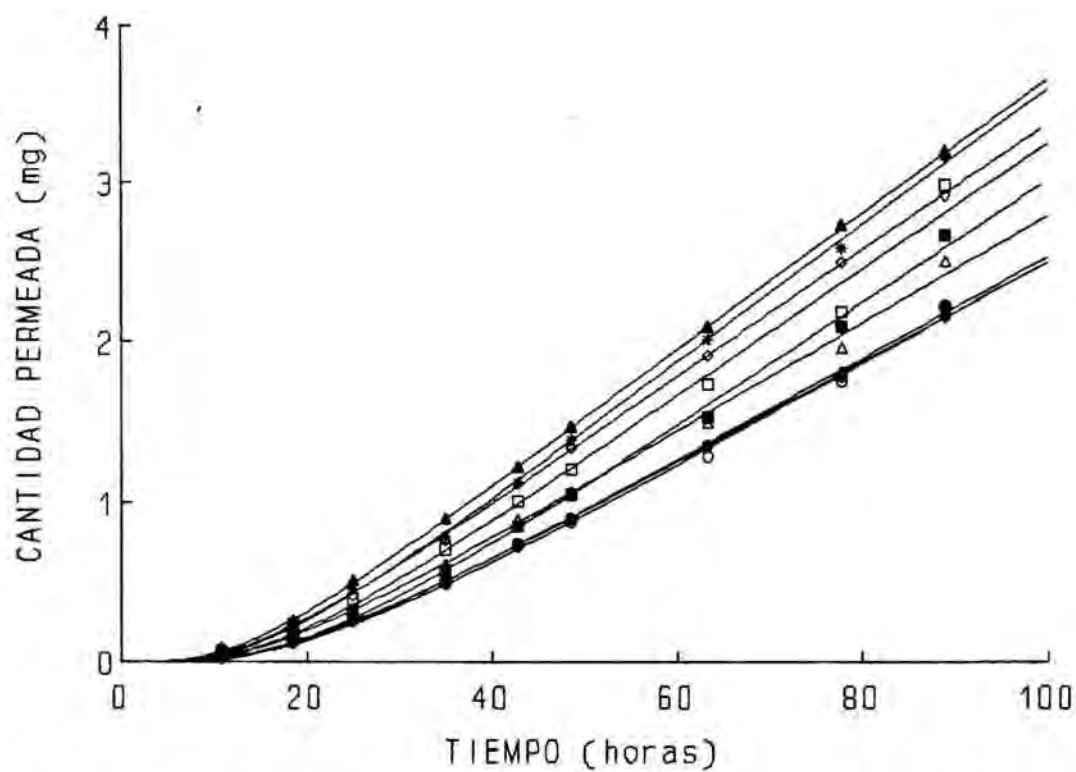
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)									X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	Celula 9	
10.25	0.0058	0.0000	0.0000	0.0028	0.0070	0.0045	0.0075	0.0037	0.0031	0.0038 ± 0.0027
22.25	0.0343	0.0379	0.0307	0.0519	0.0665	0.0402	0.0665	0.0356	0.0288	0.0436 ± 0.0146
38.00	0.1716	0.1633	0.1338	0.2061	0.2336	0.1600	0.2257	0.1684	0.1627	0.1806 ± 0.0335
46.25	0.4156	0.4176	-	0.5055	0.4826	0.3983	0.4739	0.4026	0.2711	0.4209 ± 0.0728
58.10	0.5226	0.5384	0.4555	0.6976	0.6417	0.5560	0.6517	0.5278	0.4602	0.5613 ± 0.0850
70.10	0.7228	0.6684	0.5657	1.0900	1.9462	0.6345	0.9264	0.7314	0.6915	0.8863 ± 0.4285



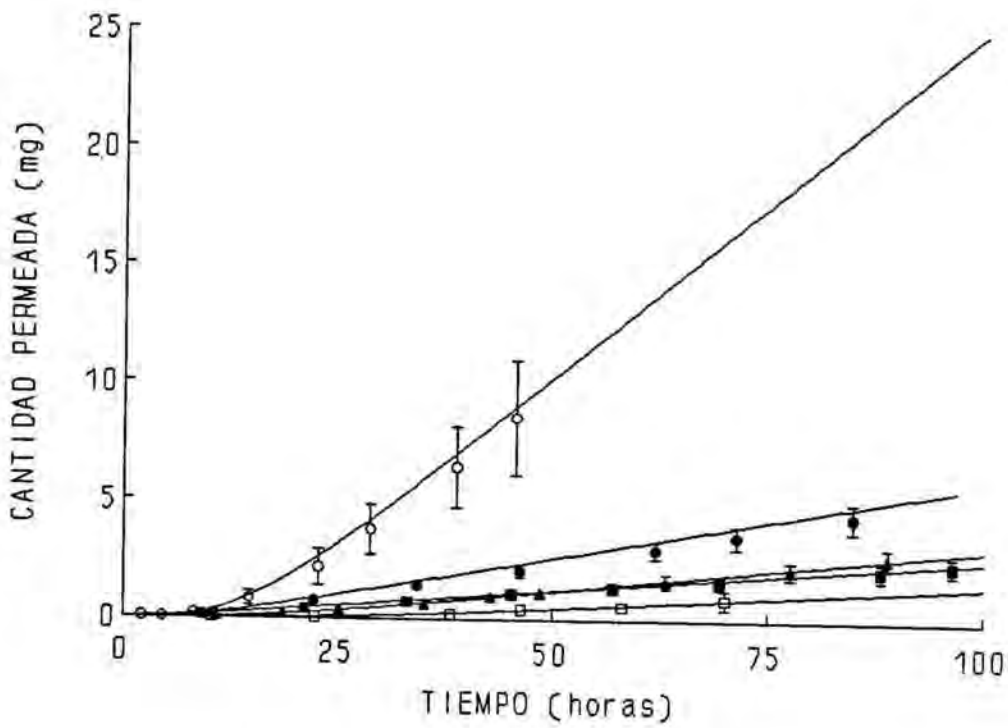
**Figura V.9.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas acumuladas en individuales en función del tiempo, correspondientes al nimodipino.

**TABLA V.28.-** Cantidades permeadas acumuladas de nimodipino en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las células, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)									X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	Celula 9	
10.25	0.0058	0.0000	0.0000	0.0028	0.0070	0.0045	0.0075	0.0037	0.0031	0.0038 ± 0.0027
22.25	0.0343	0.0379	0.0307	0.0519	0.0665	0.0402	0.0665	0.0356	0.0288	0.0436 ± 0.0146
38.00	0.1716	0.1633	0.1338	0.2061	0.2336	0.1600	0.2257	0.1684	0.1627	0.1806 ± 0.0335
46.25	0.4156	0.4176	-	0.5055	0.4826	0.3983	0.4739	0.4026	0.2711	0.4209 ± 0.0728
58.10	0.5226	0.5384	0.4555	0.6976	0.6417	0.5560	0.6517	0.5278	0.4602	0.5613 ± 0.0850
70.10	0.7228	0.6684	0.5657	1.0900	1.9462	0.6345	0.9264	0.7314	0.6915	0.8863 ± 0.4285



**Figura V.10.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas acumuladas en individuales en función del tiempo, correspondientes al nitrendipino.



**Figura V.11.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo. Las barras de error representan la desviaciones estándar ( $n=9$ , salvo para el nicardipino  $n=8$ ). Clave ● felodipino, ○ nicardipino, ■ nifedipino, □ nimodipino, ▼ nitrendipino.

**TABLA V.29.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J$	$Q_{24}$	
1	0.20365 $\pm$ 0.03500	0.01769 $\pm$ 0.00259	3.60	9.42	1.65	0.24	
2	0.30704 $\pm$ 0.02488	0.01484 $\pm$ 0.00099	4.56	11.23	2.09	0.28	
3	0.19900 $\pm$ 0.00665	0.01622 $\pm$ 0.00045	3.23	10.27	1.48	0.21	
4	0.30479 $\pm$ 0.01943	0.01360 $\pm$ 0.00070	4.15	12.25	1.90	0.24	
5	0.14403 $\pm$ 0.04438	0.03059 $\pm$ 0.00860	4.41	5.45	2.02	0.38	
6	0.20579 $\pm$ 0.00342	0.01784 $\pm$ 0.00025	3.67	9.34	1.69	0.25	
7	0.30922 $\pm$ 0.00672	0.01449 $\pm$ 0.00026	4.48	11.50	2.06	0.27	
8	0.11765 $\pm$ 0.00488	0.02764 $\pm$ 0.00010	3.25	6.03	1.43	0.28	
9	0.34840 $\pm$ 0.00361	0.01328 $\pm$ 0.00011	4.63	12.55	2.12	0.26	
X	0.23773	0.01847	4.00	9.78	1.84	0.27	
S.D	0.08181	0.00629	0.56	2.56	0.26	0.05	

**TABLA V.30.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION							
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$		
1	0.49264 $\pm$ 0.05466	0.01028 $\pm$ 0.00071	5.07	16.21	9.05	0.85		
2	0.87032 $\pm$ 0.25743	0.00808 $\pm$ 0.00135	7.03	20.63	12.56	0.89		
3	0.39694 $\pm$ 0.03871	0.01475 $\pm$ 0.00102	5.86	11.3	10.46	1.37		
4	0.81266 $\pm$ 0.23819	0.00796 $\pm$ 0.00131	6.47	20.93	11.56	0.80		
5	0.39848 $\pm$ 0.03207	0.01085 $\pm$ 0.00056	4.32	15.35	7.73	0.78		
6	0.31588 $\pm$ 0.02823	0.01136 $\pm$ 0.00066	3.59	14.67	6.41	0.67		
7	0.30115 $\pm$ 0.01799	0.01258 $\pm$ 0.00051	3.79	13.25	6.77	0.78		
8	0.27063 $\pm$ 0.01962	0.01110 $\pm$ 0.00052	3.00	15.02	5.37	0.55		
X	0.48234	0.01087	4.89	15.92	8.74	0.84		
S.D	0.23282	0.00223	1.46	3.35	2.60	0.24		

**TABLA V.31.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nifedipino.

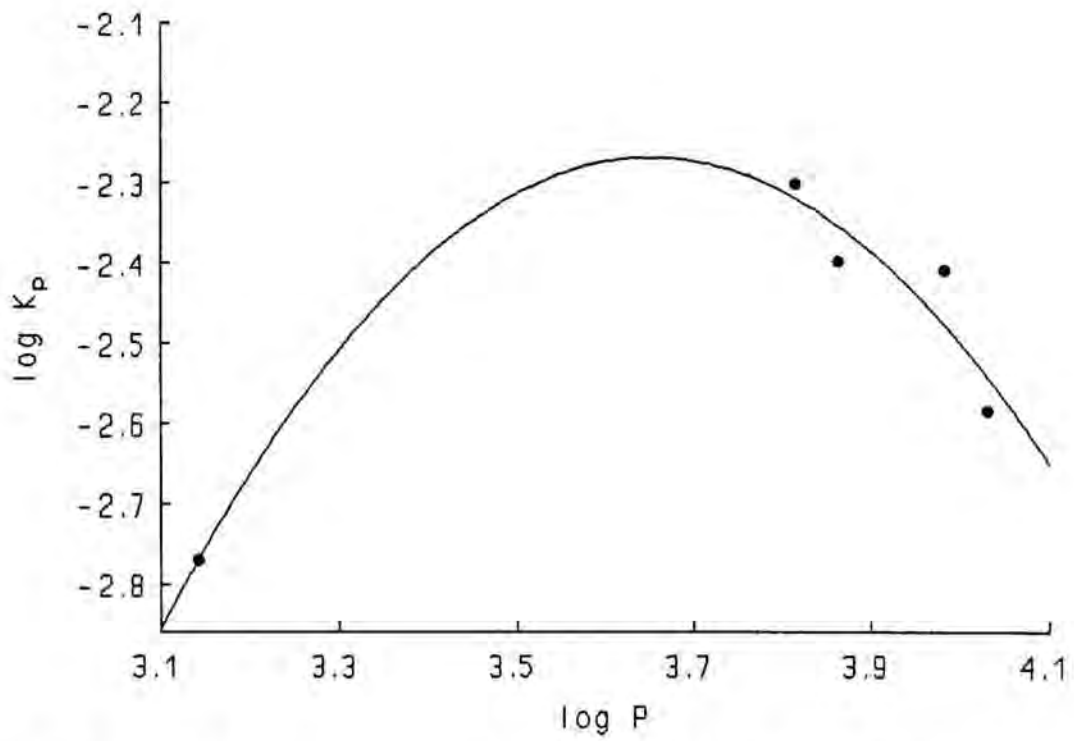
CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J$	$Q_{24}$	
1	0.04949 $\pm$ 0.01502	0.03537 $\pm$ 0.01001	1.75	4.71	0.85	0.16	
2	0.08448 $\pm$ 0.04219	0.02388 $\pm$ 0.01060	2.02	6.98	0.97	0.17	
3	0.04792 $\pm$ 0.01433	0.02773 $\pm$ 0.00749	1.33	6.01	0.64	0.12	
4	0.03782 $\pm$ 0.03876	0.04934 $\pm$ 0.04808	1.87	3.38	0.9	0.19	
5	0.04496 $\pm$ 0.01132	0.03273 $\pm$ 0.00764	1.47	5.09	0.71	0.13	
6	0.06981 $\pm$ 0.00066	0.03126 $\pm$ 0.00027	2.18	5.33	1.05	0.20	
7	0.03991 $\pm$ 0.00117	0.03500 $\pm$ 0.00095	1.40	4.76	0.68	0.13	
8	0.05882 $\pm$ 0.00122	0.02856 $\pm$ 0.00055	1.68	5.84	0.81	0.15	
9	0.03429 $\pm$ 0.00041	0.04436 $\pm$ 0.00051	1.52	3.76	0.73	0.15	
X	0.05194	0.03425	1.69	5.01	0.82	0.15	
S.D	0.01640	0.00810	0.29	1.12	0.14	0.026	

**TABLA V.32.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nimodipino.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.40213 $\pm$ 0.17600	0.00551 $\pm$ 0.00136	2.22	30.23	0.57	0.021	
2	0.31467 $\pm$ 0.16840	0.00628 $\pm$ 0.00199	1.98	26.55	0.51	0.024	
3	0.43078 $\pm$ 0.18885	0.00469 $\pm$ 0.00109	2.02	35.57	0.52	0.013	
4	1.08006 $\pm$ 0.35606	0.00397 $\pm$ 0.00062	4.28	42.02	1.10	0.018	
5	0.58656 $\pm$ 0.16539	0.00514 $\pm$ 0.00078	3.01	32.45	0.77	0.024	
6	0.32730 $\pm$ 0.19178	0.00605 $\pm$ 0.00207	1.98	27.54	0.51	0.022	
7	0.52610 $\pm$ 0.20045	0.00542 $\pm$ 0.00115	2.85	30.77	0.73	0.026	
8	0.44569 $\pm$ 0.17204	0.00525 $\pm$ 0.00111	2.34	31.74	0.60	0.020	
9	0.65240 $\pm$ 0.01174	0.00403 $\pm$ 0.00004	2.63	41.36	0.67	0.012	
X	0.52952	0.00515	2.59	33.14	0.66	0.020	
S.D	0.23492	0.000080	0.74	5.52	0.19	0.004	

**TABLA V.33.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_1$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nirendipino.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_1$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.40926 $\pm$ 0.02901	0.00817 $\pm$ 0.00041	3.34	20.40	1.01	0.072	
2	0.42856 $\pm$ 0.04174	0.00780 $\pm$ 0.00053	3.34	21.36	1.01	0.068	
3	0.53702 $\pm$ 0.06211	0.00757 $\pm$ 0.00060	4.06	22.03	1.23	0.079	
4	0.45863 $\pm$ 0.09284	0.00912 $\pm$ 0.00135	4.18	18.27	1.26	0.105	
5	0.39282 $\pm$ 0.00575	0.01156 $\pm$ 0.00013	4.54	14.42	1.37	0.147	
6	0.36500 $\pm$ 0.04494	0.00971 $\pm$ 0.00089	3.54	17.17	1.07	0.095	
7	0.39048 $\pm$ 0.05771	0.00839 $\pm$ 0.00089	3.28	19.87	0.99	0.074	
8	0.38404 $\pm$ 0.01826	0.01091 $\pm$ 0.00040	4.19	15.28	1.27	0.128	
9	0.45698 $\pm$ 0.03122	0.00996 $\pm$ 0.00051	4.55	16.74	1.37	0.126	
X	0.42475	0.00924	3.89	18.39	1.18	0.099	
S.D	0.05299	0.00140	0.52	2.69	0.16	0.029	



**Figura V.11 b.-** Representación grafica de la correlación parabolica entre  $\log P$  y  $\log K_a$ .

#### 4 Solubilidad en presencia de penetrantes.

En las tablas V.35 y V.36 se detallan los valores individuales, así como sus correspondientes desviaciones estándar, obtenidos en la determinación de la solubilidad de los antagonistas del calcio en presencia de las distintas concentraciones de penetrante ensayadas.

**TABLA V.35.-** Valores individuales obtenidos en la determinación de la solubilidad de la felodipino en presencia de penetrantes, acompañados de sus valores promedio y sus correspondiente desviación estándar.

PENETRANTE					
	1	2	3	4	X ± S.D
1% azona	8.72	8.58	8.66	8.67	8.66±0.06
5% azona	10.03	9.99	10.43	10.67	10.28±0.33
0.5% d-limoneno	7.72	7.60	7.39	7.37	7.52±0.17
1% d-limoneno	7.69	7.73	7.48	7.22	7.53±0.23
5% d-limoneno	8.92	8.88	8.86	8.82	8.87±0.04
10% d-limoneno	14.50	14.51	13.92	13.83	14.19±0.37
5% MIP	9.83	9.67	9.789	9.60	9.72±0.10
10% MIP	12.61	12.39	12.53	12.35	12.47±0.12

MIP = miristato de isopropilo.

**TABLA V.36.-** Valores individuales obtenidos en la determinación de la solubilidad de la nicardipino en presencia de penetrantes, acompañados de sus valores promedio y sus correspondiente desviación estándar.

PENETRANTE					
	1	2	3	4	X ± S.D
1% azona	13.42	13.04	13.16	13.43	13.26 ± 0.19
5% azona	11.98	11.92	12.04	12.05	12.00 ± 0.06
10% azona	11.15	11.22	10.62	10.77	10.94 ± 0.29
5% d-limoneno	14.17	14.05	14.16	13.99	14.09 ± 0.09
10% d-limoneno	12.03	11.84	11.68	11.37	11.73 ± 0.28
5% MIP	12.87	13.33	13.16	13.01	13.09 ± 0.20
10% MIP	8.34	8.67	8.52	8.45	8.49 ± 0.14

MIP = miristato de isopropilo.

### 5 Estudios de permeacion en presencia de penetrantes.

Los valores individuales y promedio, acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, correspondientes a las cantidades permeadas acumuladas a cada tiempo de toma de muestra para el felodino y el nicardipino se expresan en las TABLAS V.37 a V.49.

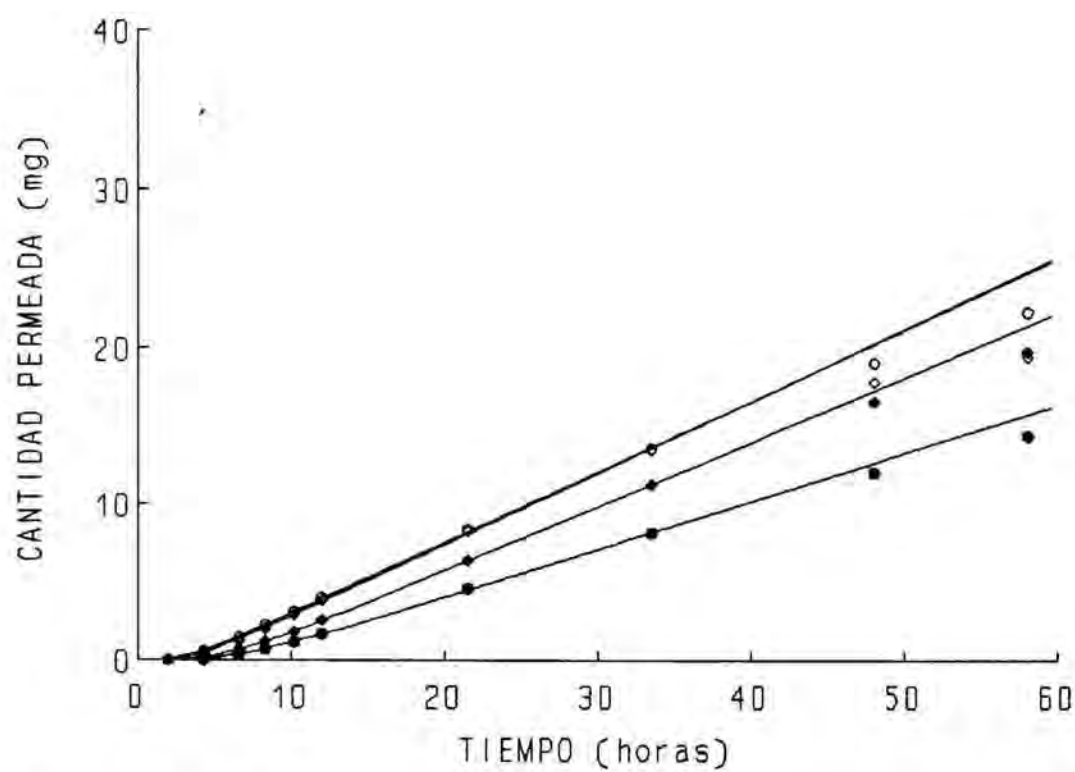
En las tablas V.50 a V.65 se encuentran reflejados los valores de los parámetros de permeación  $P_1$  y  $P_2$ , la constante de permeación ( $K_p$ ), el flujo (J), el periodo de latencia ( $T_l$ ) y la cantidad permeada las primeras 24 h ( $Q_{24}$ ), así como sus valores promedio acompañados de sus correspondientes desviaciones estándar, obtenidos para cada uno de los dos fármacos ensayados en presencia de las distintas concentraciones de penetrante ensayadas.

En las FIGURAS V.12 a V.26 se encuentran representadas las curvas

individuales correspondientes a las cantidades permeadas acumuladas en función del tiempo, para los fármacos ensayados. En las FIGURAS V.27 a V.32 se encuentran representadas las curvas promedio de permeación para felodipino y nicardipino en presencia de las distintas concentraciones ensayadas de cada penetrante frente al mismo fármaco sin penetrante.

**TABLA V.37.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 1% de azona, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

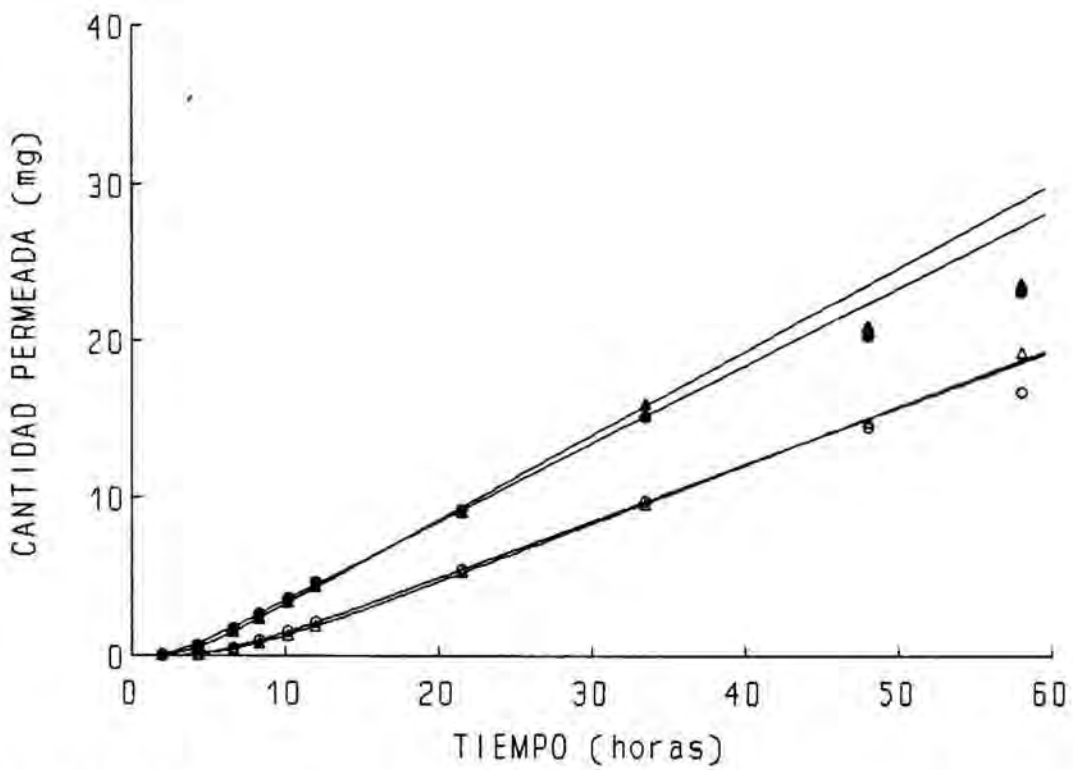
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula3	Celula 4	X ± S.D
2.0	0.000	0.034	0.040	0.065	0.035 ± 0.027
4.3	0.034	0.566	0.180	0.406	0.296 ± 0.236
6.6	0.376	1.462	0.680	1.230	0.937 ± 0.497
8.3	0.726	2.228	1.216	2.030	1.550 ± 0.703
10.2	1.182	3.046	1.834	2.930	2.248 ± 0.896
12.0	1.704	3.998	2.553	3.820	3.019 ± 1.087
21.5	4.546	8.348	6.359	8.275	6.882 ± 1.809
33.5	8.128	13.534	11.260	13.450	11.593 ± 2.539
48.0	12.015	19.024	16.570	17.800	16.352 ± 3.060
58.0	14.363	22.231	19.730	19.420	18.936 ± 3.298



**Figura V.12.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 1% de azona.

**TABLA V.38.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 5% de azona, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

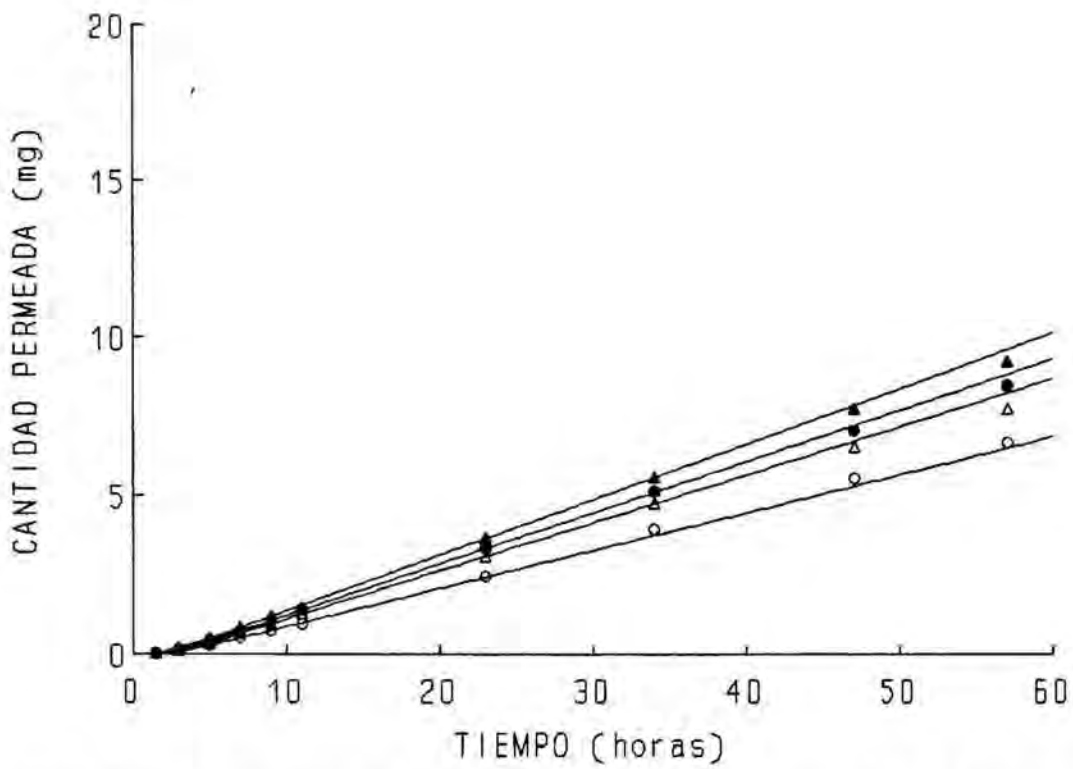
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	0.080	0.001	0.068	0.070	0.055 ± 0.036
4.3	0.680	0.110	0.580	0.120	0.373 ± 0.300
6.6	1.730	0.520	1.570	0.415	1.059 ± 0.687
8.3	2.636	0.990	2.420	0.802	1.712 ± 0.949
10.2	3.600	1.560	3.370	1.310	2.460 ± 1.190
12.0	4.640	2.170	4.350	1.900	3.265 ± 1.429
21.5	9.210	5.420	9.090	5.270	7.248 ± 2.198
33.5	15.100	9.730	15.920	9.953	12.676 ± 3.291
48.0	20.280	14.430	20.900	14.730	17.585 ± 3.481
58.0	23.140	16.700	23.640	19.240	20.680 ± 3.303



**Figura V.13.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 5% de azona.

**TABLA V.39.-** Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 0.5% de d-limoneno, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

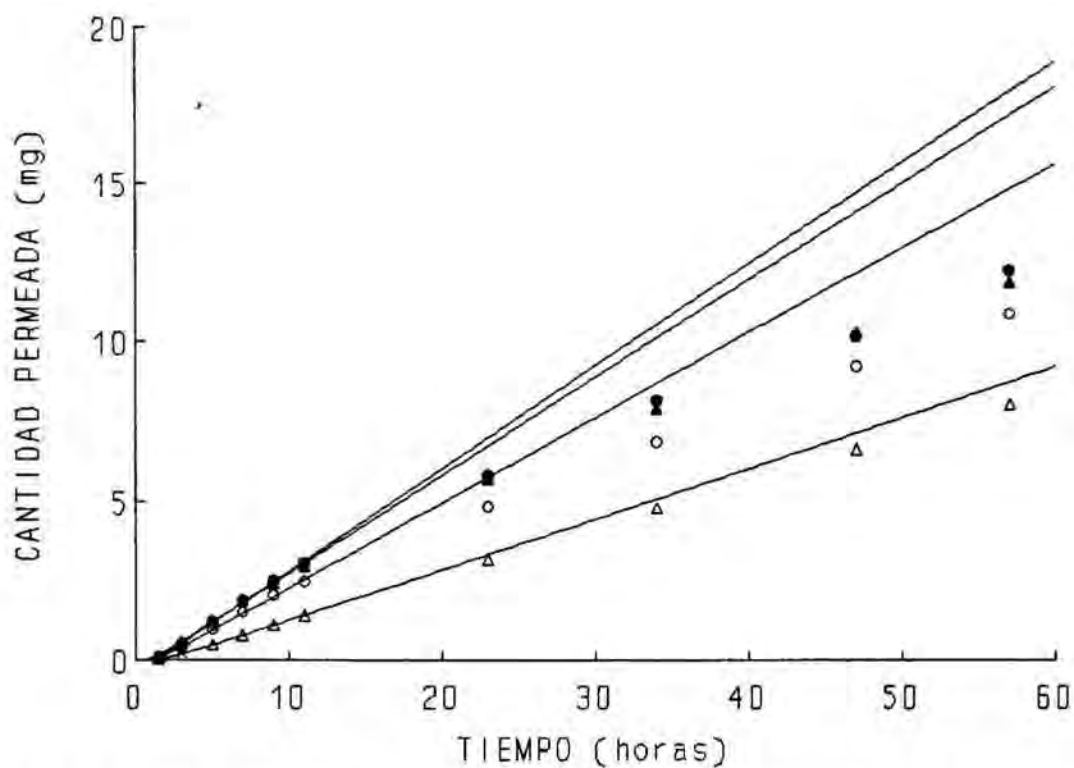
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
1.5	0.027	0.050	0.043	0.038	0.040 ± 0.001
3.0	0.163	0.115	0.198	0.145	0.155 0.035
5.0	0.440	0.303	0.509	0.323	0.394 0.098
7.0	0.726	0.520	0.861	0.675	0.696 0.141
9.0	1.049	0.733	1.201	0.958	0.985 0.196
11.0	1.390	0.953	1.467	1.266	1.269 0.226
23.0	3.318	2.428	3.651	3.065	3.116 0.517
34.0	5.116	3.913	5.561	4.738	4.832 0.699
47.0	7.031	5.540	7.709	6.515	6.699 0.914
57.0	8.447	6.655	9.209	7.699	8.003 1.090



**Figura V.14.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 0.5% de d-limoneno.

**TABLA V.40.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 1% de d-limoneno, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

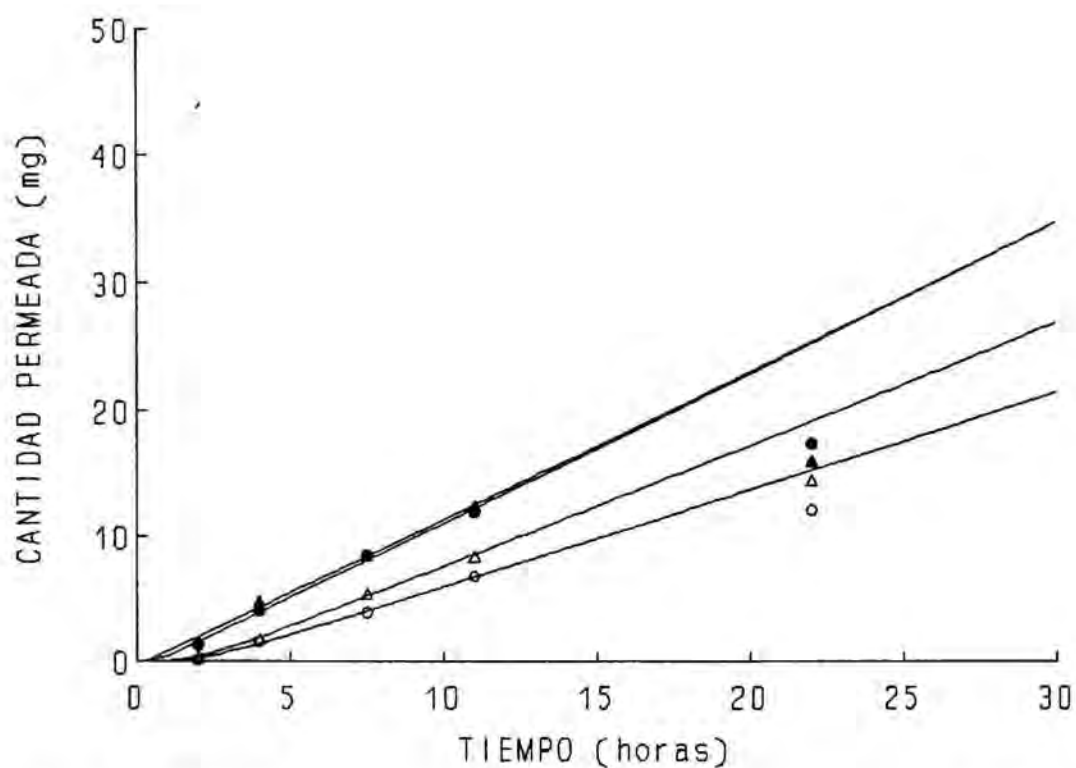
TIEMPO O (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
1.5	0.098	0.069	0.134	0.048	0.087 ± 0.037
3.0	0.526	0.393	0.578	0.185	0.421 ± 0.175
5.0	1.226	0.987	1.257	0.488	0.990 ± 0.355
7.0	1.906	1.551	1.902	0.813	1.543 ± 0.514
9.0	2.510	2.056	2.460	1.121	2.037 ± 0.643
11.0	3.065	2.497	2.995	1.428	2.496 ± 0.756
23.0	5.812	4.818	5.698	3.179	4.876 ± 1.212
34.0	8.133	6.842	7.892	4.795	6.916 ± 1.527
47.0	10.133	9.194	10.270	6.620	9.054 ± 1.692
57.0	12.213	10.834	11.819	7.990	10.714 ± 1.906



**Figura V.15.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 1% de d-limoneno.

**TABLA V.41.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 5% de d-limoneno, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

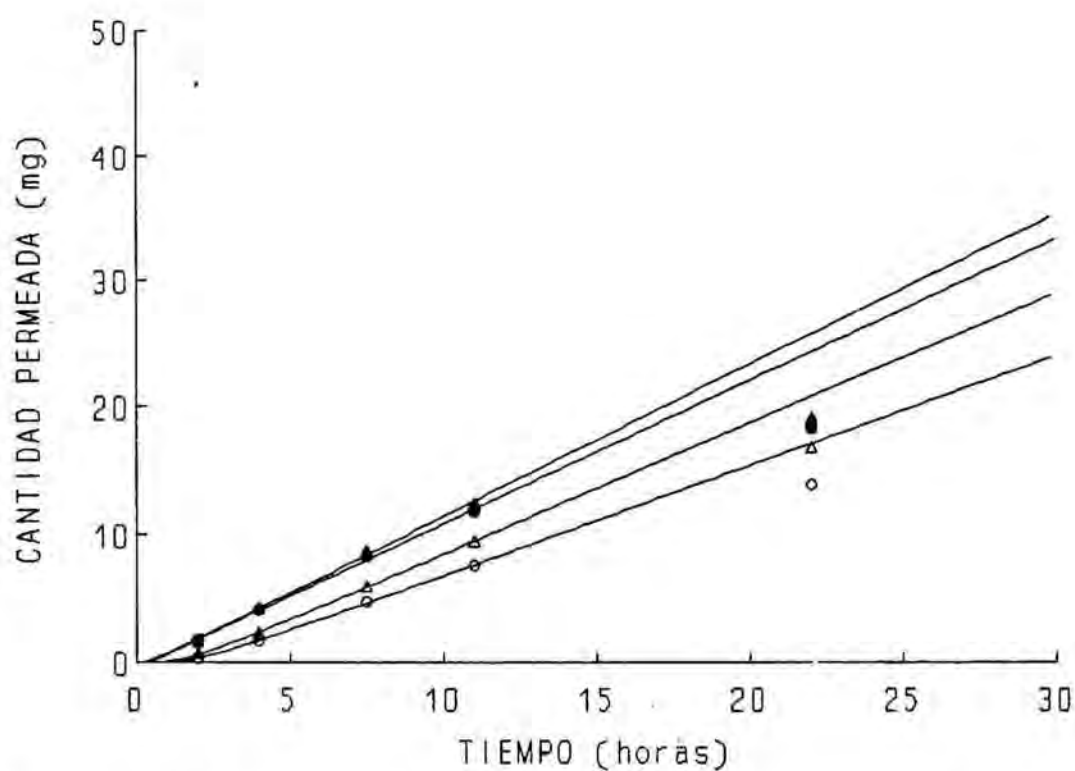
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	1.290	0.122	1.864	0.295	0.893 ± 0.827
4.0	4.008	1.070	4.789	1.795	2.916 ± 1.767
7.5	8.496	3.885	8.478	5.331	6.548 ± 2.316
11.0	11.928	6.448	11.045	8.338	9.440 ± 2.512
22.0	17.397	12.050	16.035	14.452	14.984 ± 2.296
34.0	19.604	16.103	20.181	18.208	18.524 ± 1.814
46.25	19.974	18.664	21.251	19.993	19.971 ± 1.056



**Figura V.16.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 5% de d-limoneno.

**TABLA V.42.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 10% de d-limoneno, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

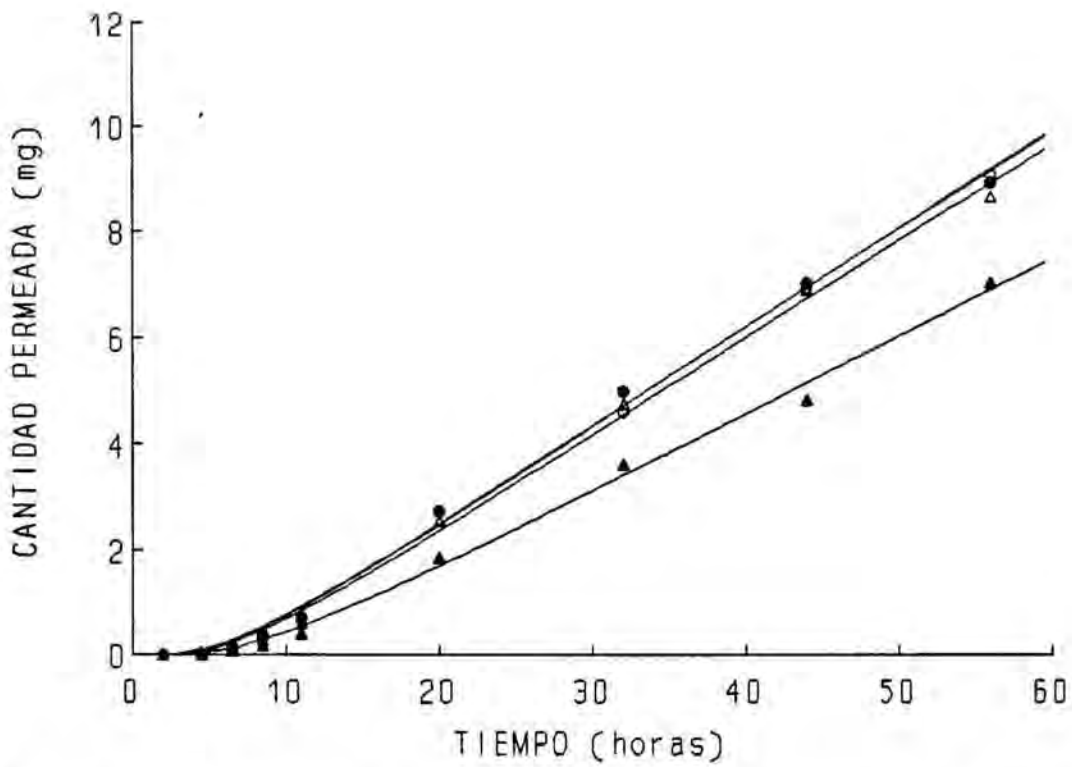
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	1.542	0.294	0.437	0.690	0.741 ± 0.559
4.0	4.111	1.720	4.338	2.332	3.125 ± 1.297
7.5	8.320	4.791	8.816	5.964	6.973 ± 1.914
11.0	11.603	7.618	12.369	9.531	10.280 ± 2.142
22.0	18.324	13.872	19.126	16.798	17.030 ± 2.316
34.0	20.961	17.860	21.827	20.553	20.300 ± 1.711
46.25	21.911	20.208	22.548	21.208	21.469 ± 1.003



**Figura V.17.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 10% de d-limoneno.

**TABLA V.43.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 5% de miristato de isopropilo, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

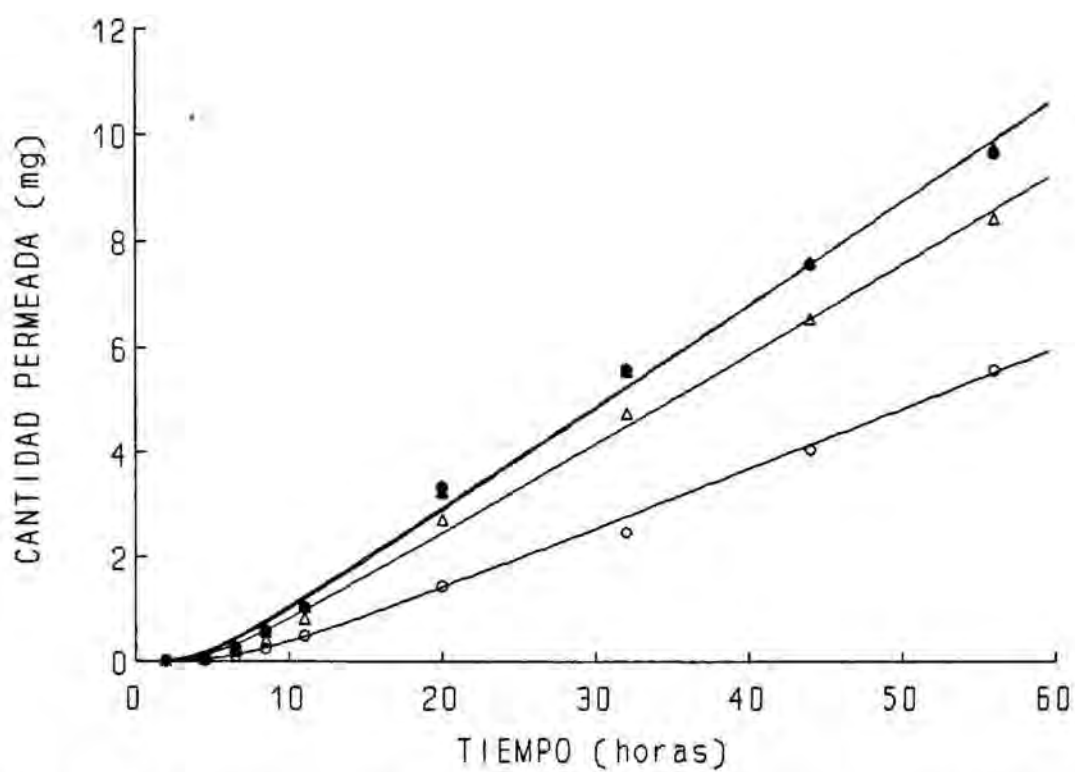
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	0.000	0.002	0.002	0.002	0.002 ± 0.001
4.5	0.027	0.034	0.014	0.026	0.025 ± 0.008
6.5	0.127	0.147	0.070	0.115	0.115 ± 0.033
8.5	0.332	0.371	0.184	0.286	0.293 ± 0.087
11.0	0.689	0.729	0.406	0.594	0.605 ± 0.144
20.0	2.733	2.730	1.865	2.559	2.472 ± 0.413
32.0	4.981	4.857	3.609	4.759	4.552 ± 0.635
44.0	6.996	6.907	4.817	6.887	6.244 ± 1.372
56.0	8.900	9.056	7.008	8.641	8.401 ± 0.944



**Figura V.18.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 5% de miristato de isopropilo.

**TABLA V.44.-** *Cantidades permeadas acumuladas de felodipino, en presencia de un 10% de miristato de isopropilo, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

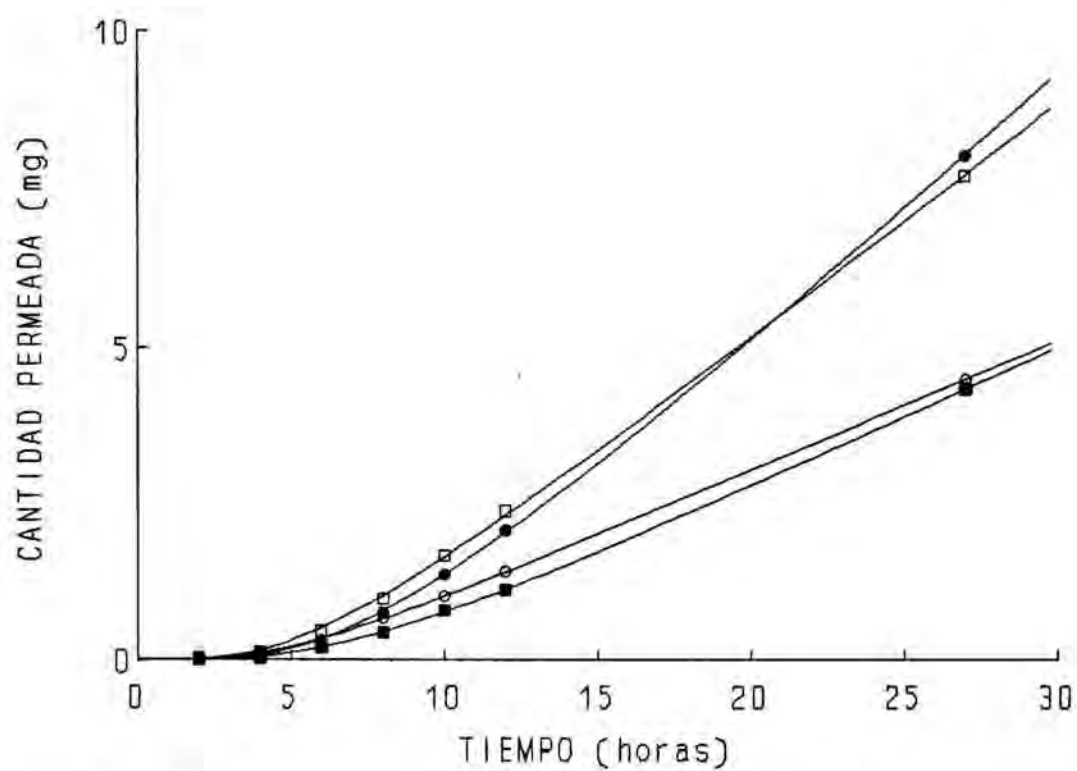
TIEMPO O (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	0.020	0.010	0.020	0.018	0.017 ± 0.005
4.5	0.074	0.020	0.075	0.045	0.054 ± 0.026
6.5	0.273	0.104	0.272	0.193	0.211 ± 0.080
8.5	0.591	0.252	0.583	0.433	0.465 ± 0.159
11.0	1.048	0.490	1.053	0.833	0.856 ± 0.265
20.0	3.336	1.432	3.257	2.730	2.689 ± 0.880
32.0	5.582	2.847	5.535	4.743	4.677 ± 1.279
44.0	7.559	4.052	7.597	6.536	6.436 ± 1.663
56.0	9.642	5.568	9.735	8.406	8.338 ± 1.943



**Figura V.19.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a felodipino en presencia de un 10% de miristato de isopropilo.

**TABLA V.45.-** *Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 1% de azona, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

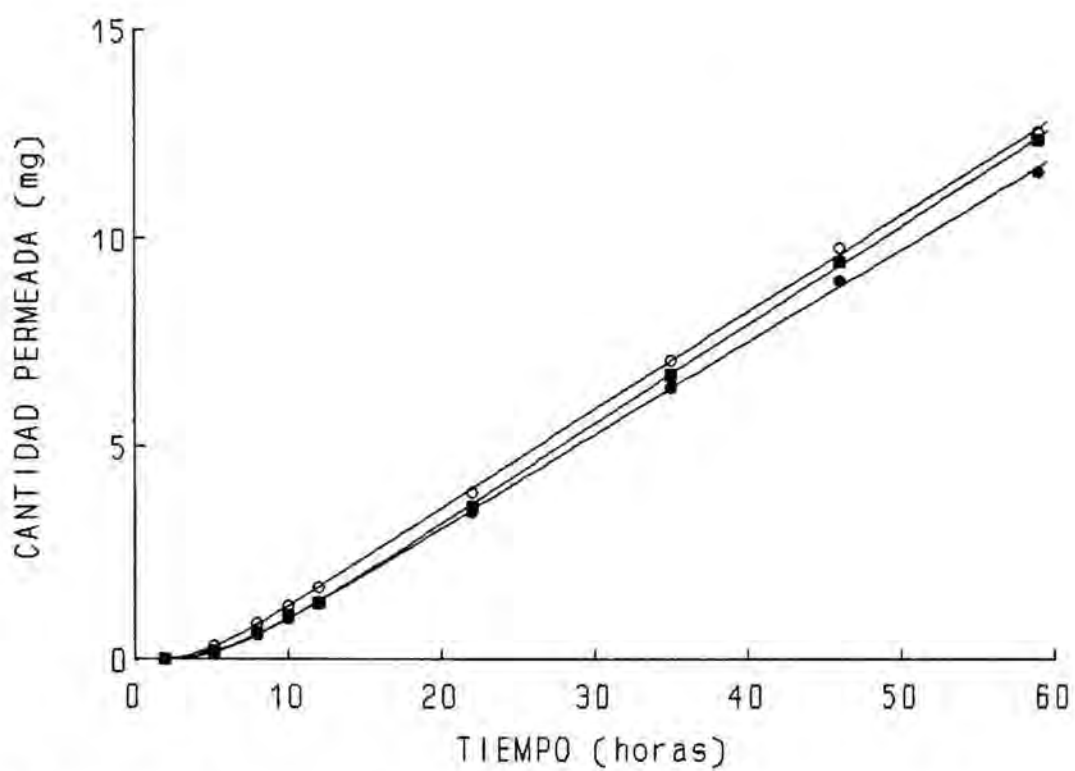
TIEMPO O (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	0.011	0.009	0.005	0.016	0.010 ± 0.005
4.0	0.062	0.106	0.022	0.124	0.079 ± 0.046
6.0	0.310	0.318	0.190	0.446	0.316 ± 0.105
8.0	0.752	0.664	0.441	0.982	0.710 ± 0.224
10.0	1.357	1.012	0.779	1.656	1.201 ± 0.385
12.0	2.055	1.404	1.122	2.362	1.736 ± 0.572
27.0	8.024	4.480	4.321	7.716	6.135 ± 2.008



**Figura V.20.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 1% de azona.

**TABLA V.46.-** *Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 5% de azona, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

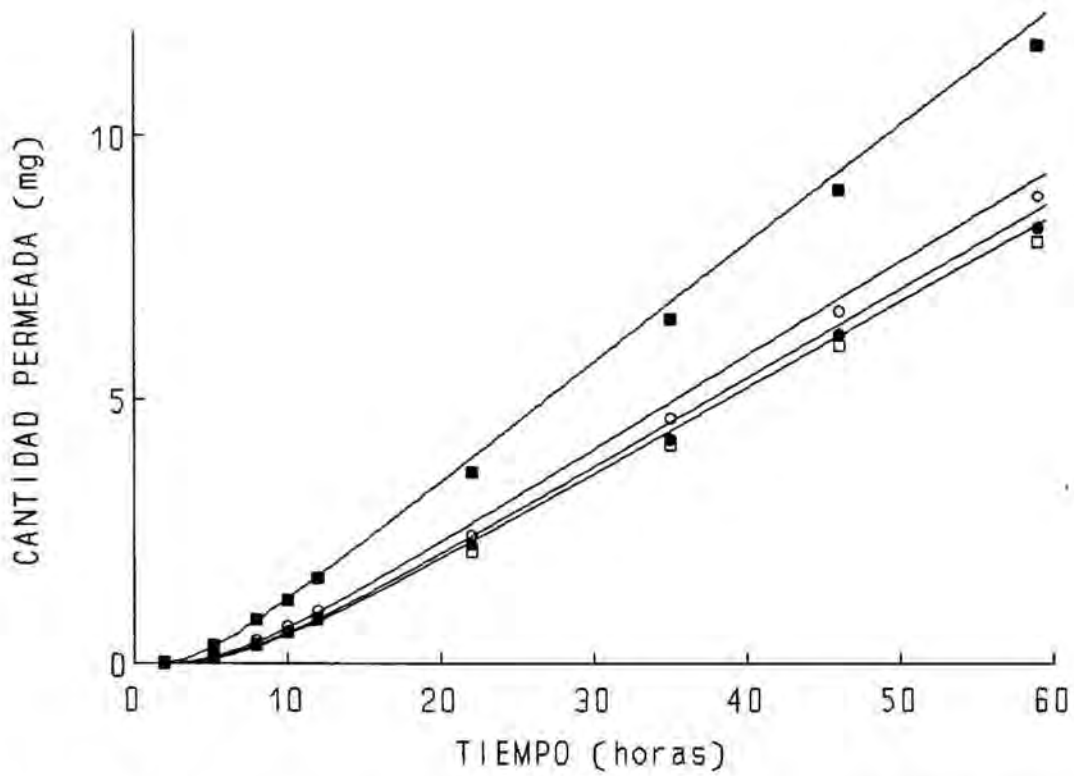
TIEMPO O (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)			
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	X ± S.D
2.0	0.004	0.008	0.009	0.007 ± 0.003
5.16	0.164	0.322	0.182	0.223 ± 0.086
8.00	0.580	0.847	0.623	0.683 ± 0.143
10.00	0.955	1.246	1.015	1.072 ± 0.154
12.00	1.347	1.688	1.323	1.453 ± 0.204
22.00	3.460	3.922	3.578	3.653 ± 0.240
35.00	6.396	7.040	6.705	6.714 ± 0.322
46.00	8.967	9.764	9.435	9.389 ± 0.401
59.00	11.589	12.551	12.371	12.170 ± 0.511



**Figura V.21.-** Representación grafica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 5% de azona.

**TABLA V.47.-** *Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 10% de azona, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

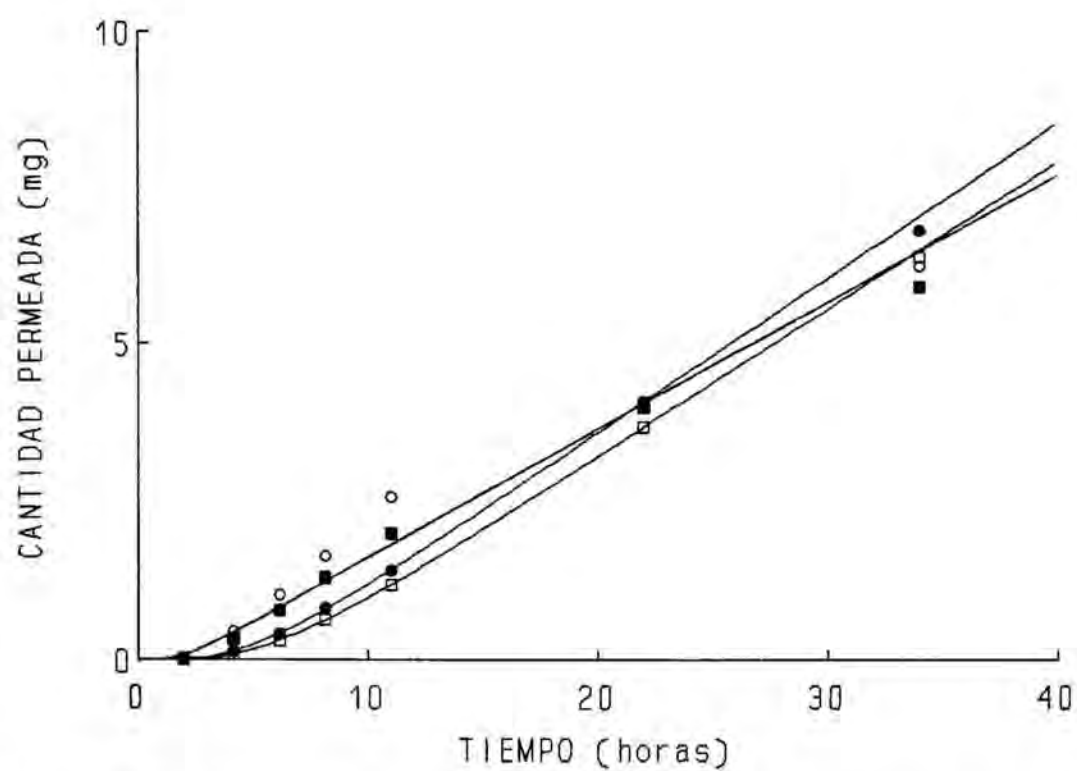
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.0	0.002	0.006	0.014	0.002	0.006 ± 0.006
5.16	0.100	0.134	0.340	0.091	0.166 ± 0.117
8.00	0.365	0.453	0.839	0.348	0.501 ± 0.230
10.00	0.615	0.730	1.213	0.599	0.789 ± 0.288
12.00	0.877	1.011	1.638	0.852	1.095 ± 0.369
22.00	2.265	2.443	3.629	2.126	2.616 ± 0.688
35.00	4.258	4.643	6.497	4.148	4.887 ± 1.094
46.00	6.217	6.655	8.952	6.010	6.869 ± 1.180
59.00	8.224	8.834	11.741	7.965	9.191 ± 1.379



**Figura V.22.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 10% de azona.

**TABLA V.48.-** *Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 5% de d-limoneno, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

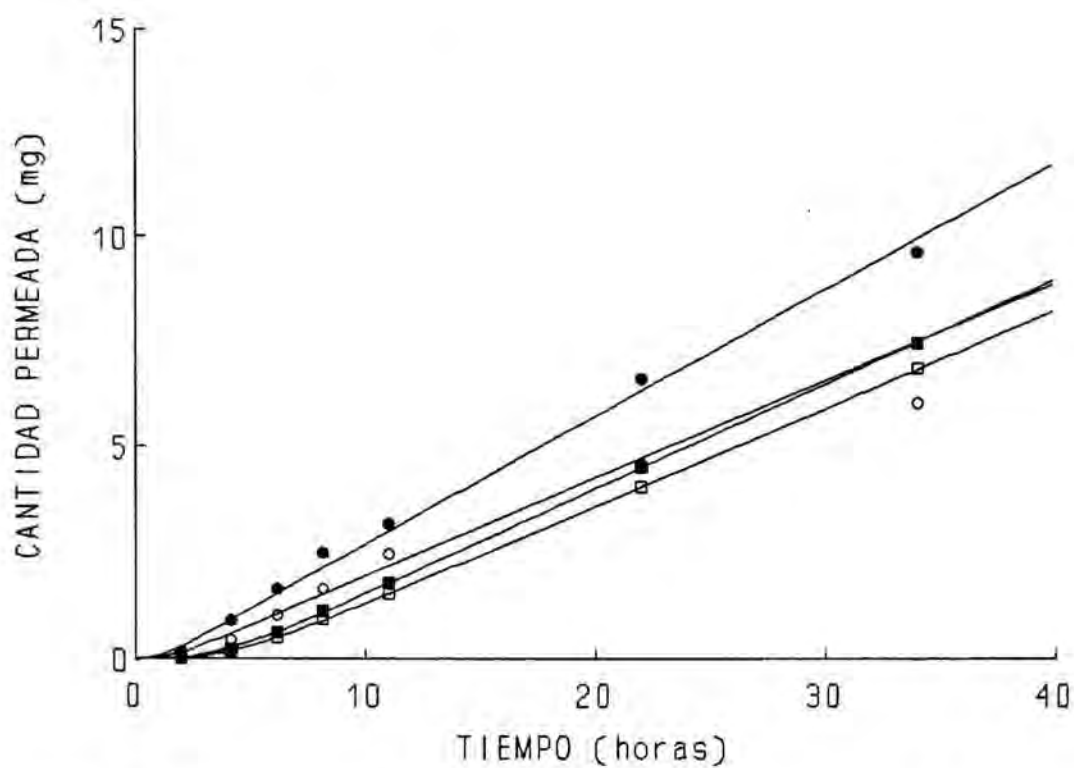
TIEMPO O (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.00	0.001	0.035	0.016	0.001	0.013 ± 0.016
4.16	0.125	0.439	0.325	0.096	0.246 ± 0.104
6.16	0.406	1.009	0.767	0.295	0.619 ± 0.329
8.16	0.803	1.613	1.274	0.631	1.080 ± 0.447
11.00	1.388	2.552	1.960	1.170	1.768 ± 0.620
22.00	4.067	6.237	3.972	3.665	4.485 ± 1.180
34.00	6.815	9.534	5.905	6.379	7.158 ± 1.627



**Figura V.23.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 5% de d-limoneno.

**TABLA V.49.-** *Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 10% de d-limoneno, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, asi como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.*

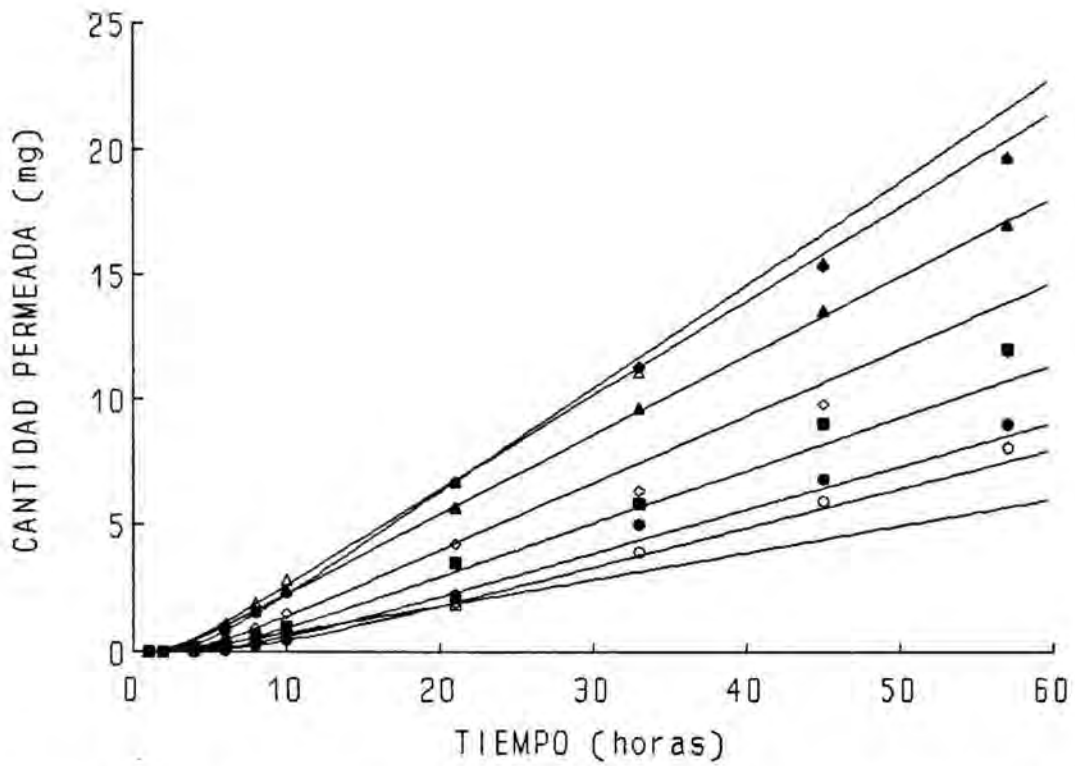
TIEMPO O (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)				
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	X ± S.D
2.00	0.160	0.028	0.004	0.003	0.049 ± 0.075
4.16	0.904	0.453	0.238	0.179	0.444 ± 0.320
6.16	1.636	1.018	0.640	0.504	0.950 ± 0.507
8.16	2.484	1.640	1.118	0.925	1.542 ± 0.697
11.00	3.169	2.450	1.773	1.524	2.229 ± 0.739
22.00	6.590	4.580	4.486	4.041	4.924 ± 1.135
34.00	9.613	6.025	7.441	6.847	7.482 ± 1.535



**Figura V.24.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 10% de d-limoneno.

**TABLA V.48.-** Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 5% de miristato de isopropilo, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las células, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

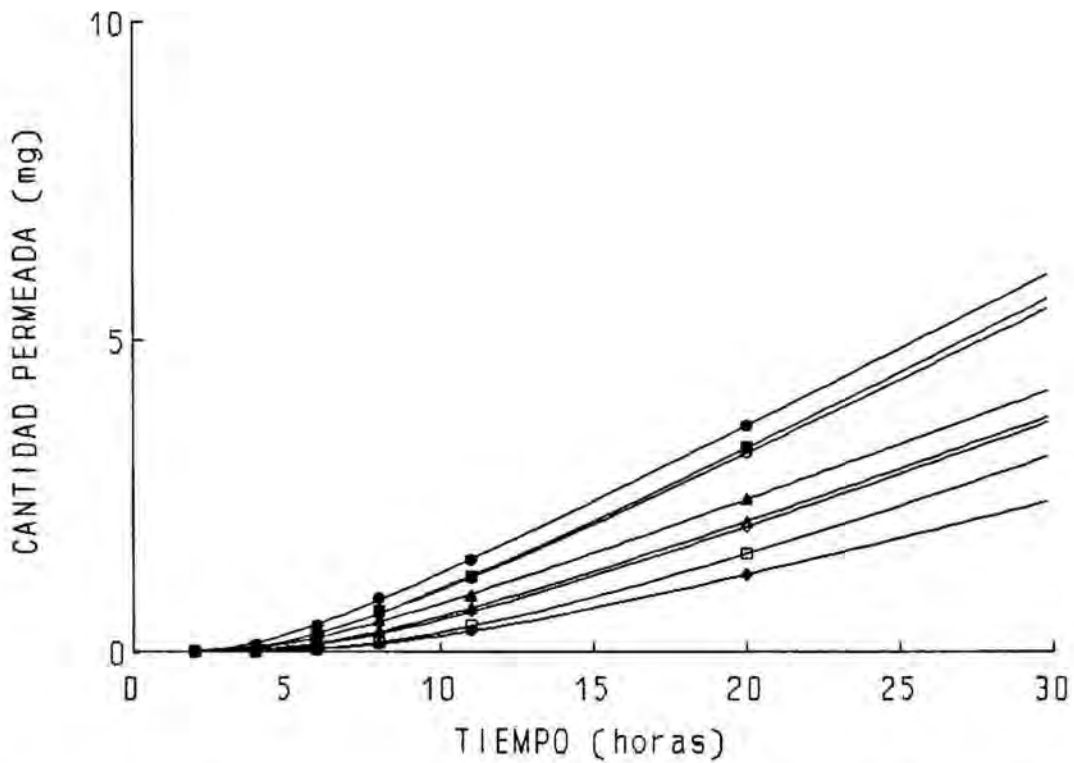
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)								X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	
1.0	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
2.0	0.001	0.000	0.002	0.002	0.016	0.016	0.007	0.003	0.006 ± 0.007
4.0	0.014	0.006	0.038	0.040	0.336	0.336	0.175	0.095	0.130 ± 0.138
6.0	0.131	0.059	0.233	0.237	1.002	1.073	0.761	0.425	0.490 ± 0.401
8.0	0.373	0.266	0.606	0.590	1.612	1.914	1.535	0.912	0.976 ± 0.627
10.0	0.600	0.474	0.995	0.903	2.431	2.839	2.322	1.491	1.507 ± 0.911
21.0	2.332	1.951	3.519	1.855	5.687	6.702	6.707	4.256	4.126 ± 2.043
33.0	7.012	3.926	5.816	5.047	9.641	11.106	11.315	6.363	7.528 ± 2.811
45.0	6.829	5.937	9.044	8.262	13.558	15.463	15.337	9.780	10.526 ± 3.767
57.0	9.001	8.072	12.028	10.729	17.015	19.697	19.640	11.914	13.512 ± 4.637



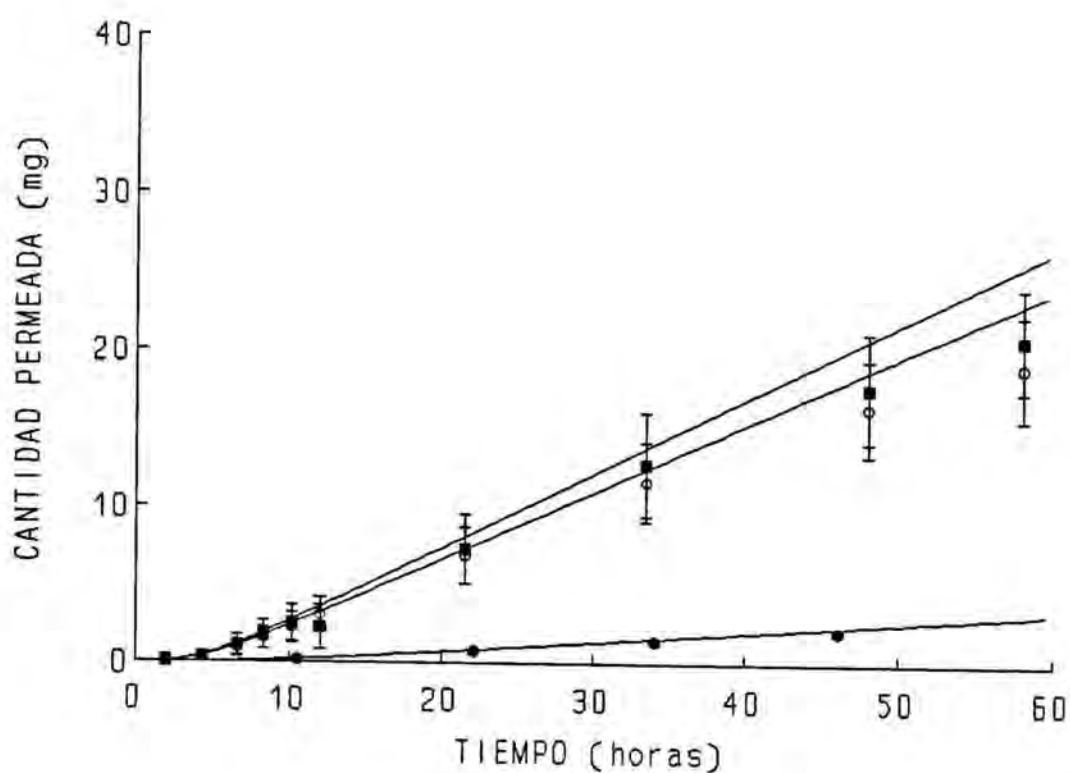
**Figura V.25.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 5% de miristato de isopropilo.

**TABLA V.49.-** Cantidades permeadas acumuladas de nicardipino, en presencia de un 10% de miristato de isopropilo, en el compartimento receptor. Se consignan los valores individuales obtenidos para cada una de las celulas, así como las cantidades promedio permeadas a cada tiempo de toma de muestra.

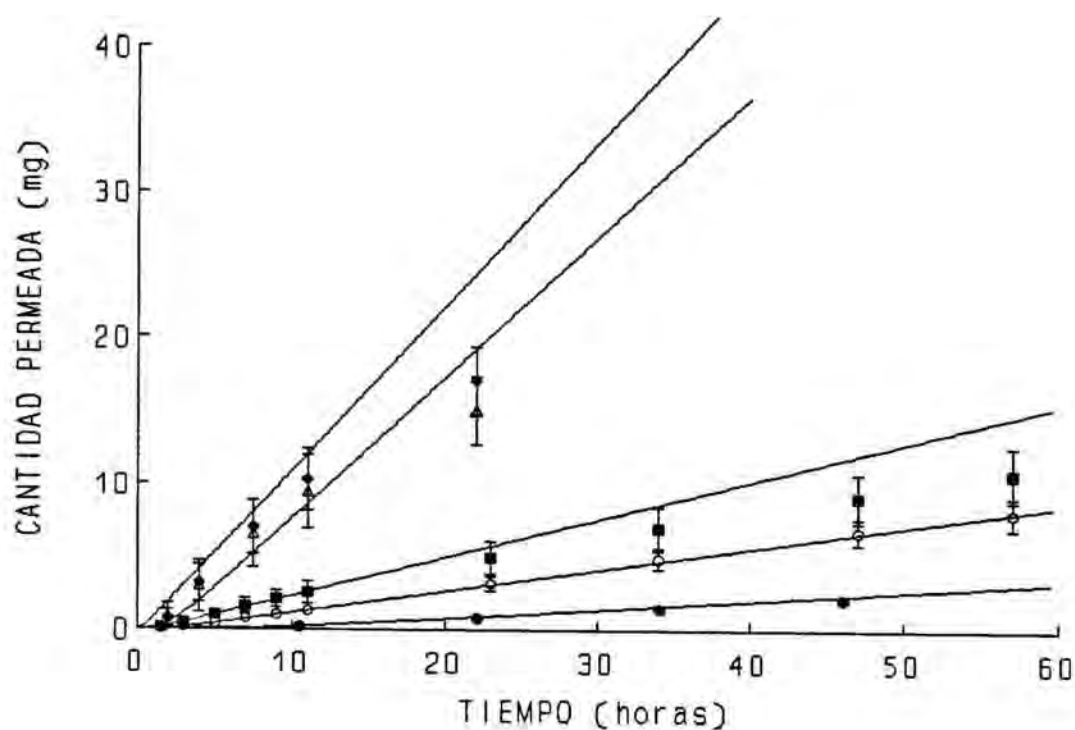
TIEMPO (horas)	CANTIDADES PERMEADAS (mg)								X ± S.D
	Celula 1	Celula 2	Celula 3	Celula 4	Celula 5	Celula 6	Celula 7	Celula 8	
2.0	0.003	0.001	0.002	0.007	0.001	0.000	0.000	0.000	0.002 ± 0.002
4.0	0.115	0.053	0.058	0.013	0.051	0.016	0.001	0.016	0.040 ± 0.037
6.0	0.419	0.262	0.271	0.040	0.228	0.117	0.029	0.098	0.183 ± 0.135
8.0	0.845	0.624	0.636	0.148	0.501	0.330	0.128	0.290	0.438 ± 0.256
11.0	1.469	1.182	1.191	0.406	0.894	0.689	0.332	0.635	0.850 ± 0.405
20.0	3.634	3.191	3.274	1.568	2.452	2.092	1.230	2.010	2.431 ± 0.863
32.0	5.859	5.136	5.238	2.826	3.947	3.600	2.292	3.450	4.044 ± 1.255
44.0	7.768	7.034	7.208	4.077	5.389	5.130	3.379	4.993	5.622 ± 1.569
56.0	9.449	9.109	8.866	5.331	6.809	6.522	4.516	6.394	7.125 ± 1.828



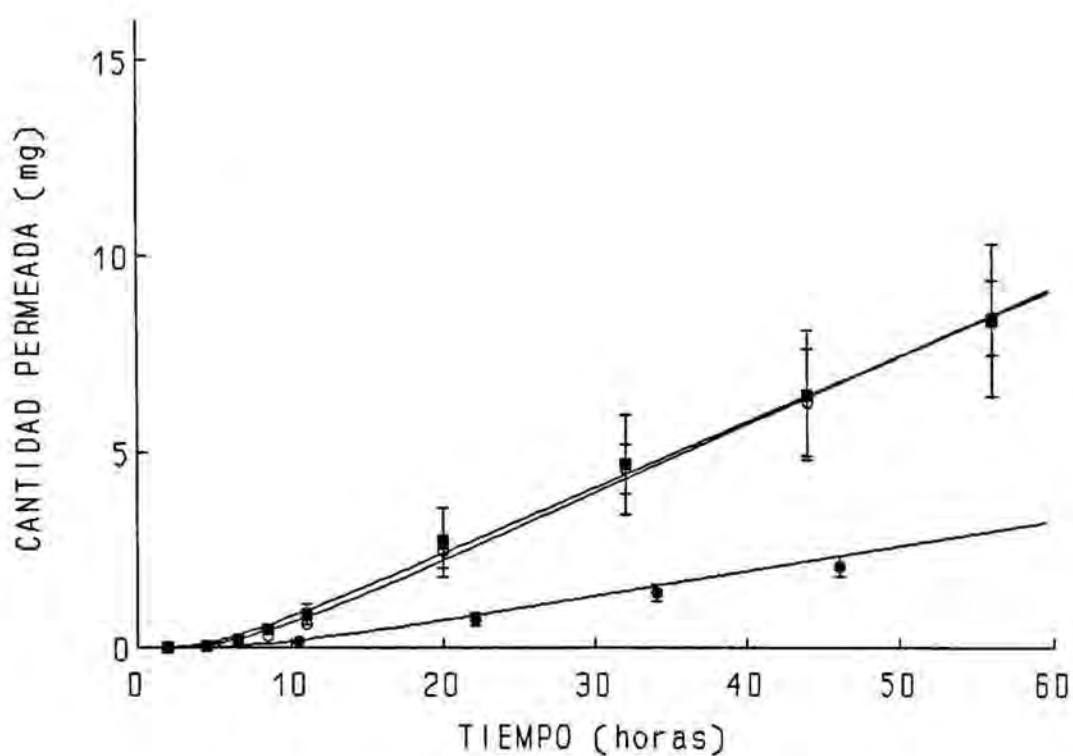
**Figura V.26.-** Representación gráfica de las cantidades permeadas en función del tiempo correspondientes a nicardipino en presencia de un 10% de miristato de isopropilo.



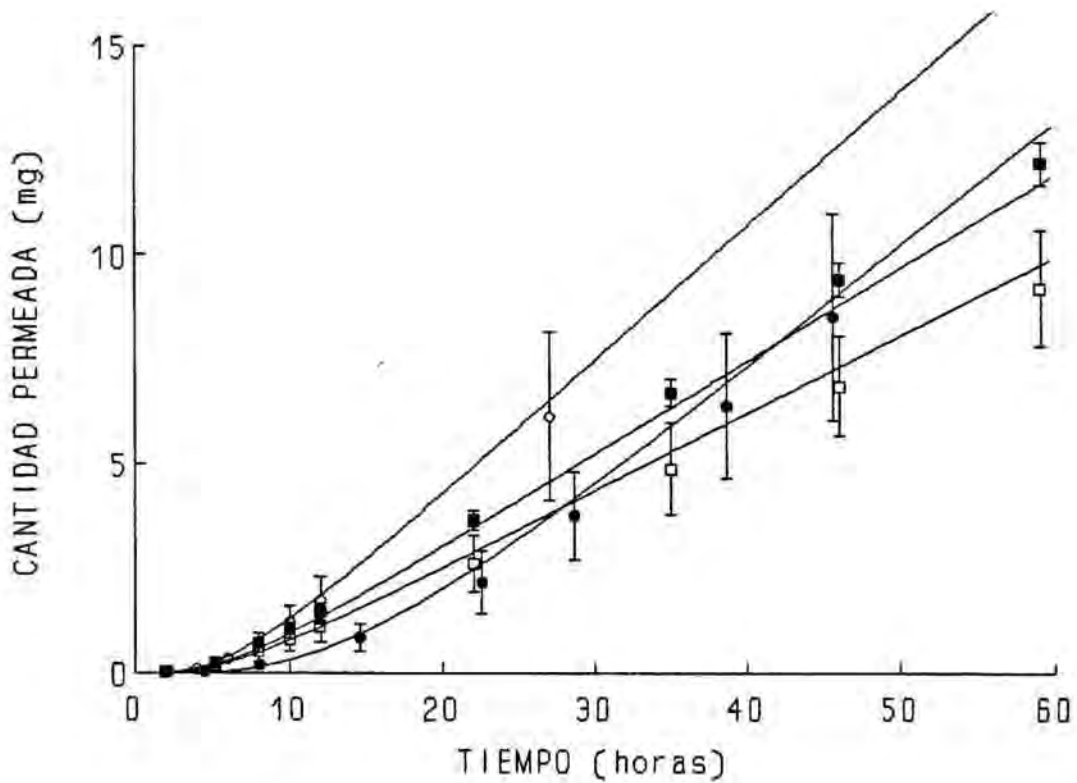
**Figura V.27.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo, de felodipino en presencia de azona. Las barras de error representan la desviaciones estándar. Clave • felodipino sin penetrante, ○ 1% de azona, ■ 5% de azona.



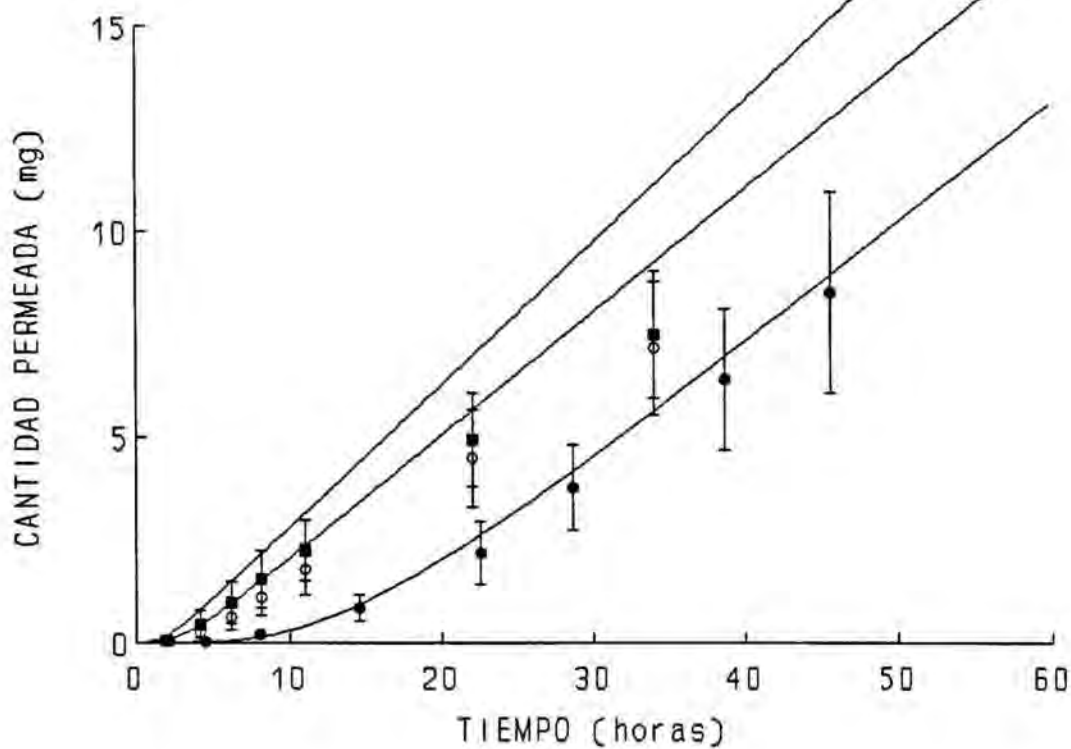
**Figura V.28.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo, de felodipino en presencia de d-limoneno. Las barras de error representan la desviaciones estándar. Clave ● felodipino sin penetrante, ○ 0.5% de d-limoneno, ■ 5% de d-limoneno, □ 10% de d-limoneno.



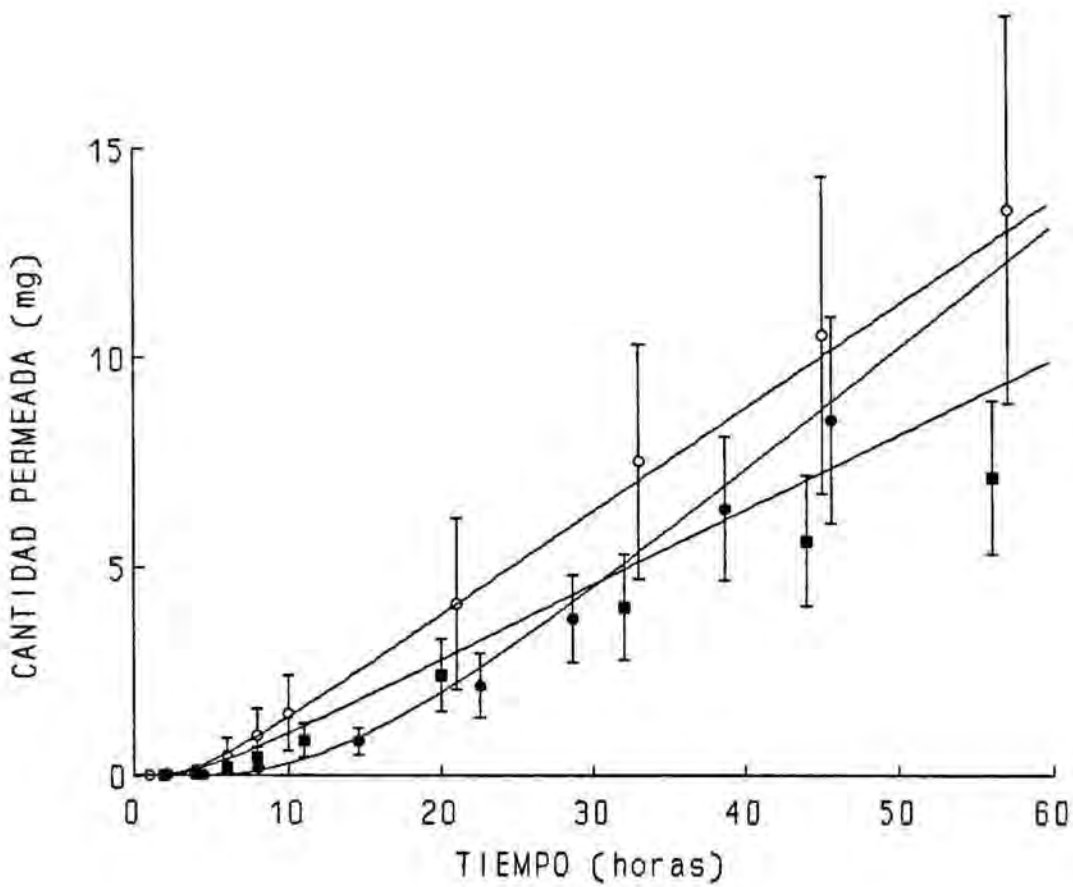
**Figura V.29.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo, de felodipino en presencia de miristato de isopropilo. Las barras de error representan la desviaciones estándar. Clave ● felodipino sin penetrante, ○ 5% de miristato de isopropilo, ■ 10% de miristato de isopropilo.



**Figura V.30.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo, de nicardipino en presencia de azona. Las barras de error representan la desviaciones estándar. Clave ● nicardipino sin penetrante, ○ 1% de azona, ■ 5% de azona, □ 10% de azona.



**Figura V.31.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo, de nifedipino en presencia de d-limoneno. Las barras de error representan la desviaciones estándar. Clave ● nifedipino sin penetrante, ○ 5% de d-limoneno, ■ 10% de d-limoneno.



**Figura V.32.-** Curvas promedio de cantidades permeadas frente al tiempo, de nicardipino en presencia de miristato de isopropilo. Las barras de error representan la desviaciones estándar. Clave ● nicardipino sin penetrante, ○ 5% de miristato de isopropilo, ■ 10% de miristato de isopropilo.

**TABLA V.50.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 1% de azona.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	$0.48609 \pm 0.01872$	$0.02340 \pm 0.00066$	11.37	7.12	0.098	1.666
2	$0.34036 \pm 0.01798$	$0.04892 \pm 0.0219$	16.65	3.41	0.144	2.969
3	$0.56361 \pm 0.00848$	$0.02692 \pm 0.00031$	15.17	6.19	0.131	2.342
4	$0.39744 \pm 0.02692$	$0.04246 \pm 0.00238$	16.88	3.92	0.146	2.934
X	0.44688	0.03546	15.02	5.16	13.00	2.478
S.D	0.09824	0.01223	2.54	1.78	2.20	0.613

**TABLA V.51.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 5% de azona.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	$0.27965 \pm 0.01500$	$0.05506 \pm 0.00254$	15.40	3.03	0.158	10.43	
2	$0.43438 \pm 0.0944$	$0.02569 \pm 0.00042$	11.16	6.49	0.115	6.32	
3	$0.40384 \pm 0.02214$	$0.04113 \pm 0.00186$	16.61	4.05	0.171	10.70	
4	$0.52353 \pm 0.01569$	$0.02196 \pm 0.00047$	11.50	7.59	0.115	6.11	
X	0.41035	0.03596	13.67	5.30	0.1397	8.39	
S.D	0.10085	0.01520	2.75	2.11	0.029	2.25	

**TABLA V.52.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 0.5% de d-limoneno.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	0.09985 $\pm$ 0.0266	0.06229 $\pm$ 0.00153	6.22	2.68	0.047	3.133
2	0.08375 $\pm$ 0.00676	0.06033 $\pm$ 0.00401	5.05	2.76	0.038	2.535
3	0.09805 $\pm$ 0.0800	0.07544 $\pm$ 0.00526	7.40	2.21	0.056	3.808
4	0.10364 $\pm$ 0.0690	0.06175 $\pm$ 0.00339	6.40	2.70	0.048	3.221
X	0.09632	0.06495	6.27	2.59	0.047	3.174
S.D	0.00870	0.00704	0.96	0.25	0.007	0.521

**TABLA V.53.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 1% de d-limoneno.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0103399 $\pm$ 0.01746	0.13133 $\pm$ 0.01897	13.58	1.27	0.102	7.301	
2	0.09388 $\pm$ 0.01773	0.11978 $\pm$ 0.01855	11.24	1.39	0.085	6.014	
3	0.07871 $\pm$ 0.01584	0.16434 $\pm$ 0.02894	12.94	1.01	0.097	7.034	
4	0.07758 $\pm$ 0.00457	0.08619 $\pm$ 0.00394	6.69	1.93	0.050	3.490	
X	0.08839	0.12541	15.02	1.40	0.084	5.960	
S.D	0.01246	0.03225	2.54	0.39	0.023	1.737	

**TABLA V.54.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 5% de d-limoneno.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	0.17848 $\pm$ 0.09590	0.23837 $\pm$ 0.11719	42.54	0.70	0.377	27.62
2	0.38930 $\pm$ 0.09107	0.07151 $\pm$ 0.01248	27.84	2.33	0.247	16.81
3	0.07806 $\pm$ 0.10233	0.53730 $\pm$ 0.67782	41.94	0.31	0.372	27.69
4	0.43910 $\pm$ 0.08380	0.07878 $\pm$ 0.01135	34.59	2.11	0.307	21.09
X	0.27124	0.23149	36.73	1.36	0.326	23.30
S.D	0.17131	0.21793	6.94	1.00	0.062	5.32

**TABLA V.55.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 10% de d-limoneno.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	0.05300 $\pm$ 0.03330	0.47594 $\pm$ 0.28636	25.22	0.35	0.358	26.59
2	0.23948 $\pm$ 0.02936	0.08053 $\pm$ 0.00761	18.91	2.07	0.268	18.85
3	0.07235 $\pm$ 0.05001	0.37092 $\pm$ 0.24251	26.84	0.45	0.381	28.17
4	0.23553 $\pm$ 0.01624	0.09768 $\pm$ 0.00543	23.01	1.71	0.327	22.86
X	0.15009	0.25627	23.49	1.14	0.333	24.22
S.D	0.10126	0.19785	3.44	0.87	0.049	4.16

**TABLA V.56.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_1$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 5% de miristato de isopropilo.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_1$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	0.23500 $\pm$ 0.04745	0.02569 $\pm$ 0.00437	6.04	6.49	0.059	3.23
2	0.24215 $\pm$ 0.03267	0.02508 $\pm$ 0.00284	6.07	6.65	0.059	3.22
3	0.24078 $\pm$ 0.04678	0.01916 $\pm$ 0.003077	4.74	8.46	0.046	2.26
4	0.25100 $\pm$ 0.04554	0.02370 $\pm$ 0.00358	5.95	7.03	0.058	3.08
X	0.24223	0.02341	5.70	7.16	0.055	2.95
S.D	0.00662	0.000295	0.64	0.90	0.006	0.46

**TABLA V.57.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de felodipino en presencia de un 10% de miristato de isopropilo.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.13799 $\pm$ 0.03181	0.03560 $\pm$ 0.00724	4.91	0.061	0.061	3.72	
2	0.13402 $\pm$ 0.00935	0.02177 $\pm$ 0.00124	2.92	0.036	0.036	1.87	
3	0.15004 $\pm$ 0.02460	0.03301 $\pm$ 0.00474	4.95	0.062	0.062	28.17	
4	0.14128 $\pm$ 0.02565	0.03063 $\pm$ 0.00482	4.33	0.054	0.054	22.86	
X	0.14083	0.03025	4.28	0.053	0.053	24.22	
S.D	0.00682	0.00601	0.95	0.012	0.012	4.16	

**TABLA V.58.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_1$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 1% de azona.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_1$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	0.49271 $\pm$ 0.00886	0.02065 $\pm$ 0.00025	10.17	8.07	13.49	2.158
2	0.16295 $\pm$ 0.00827	0.03061 $\pm$ 0.00115	4.99	5.44	6.61	1.454
3	0.24719 $\pm$ 0.00470	0.02169 $\pm$ 0.00028	5.36	7.684	7.11	1.172
4	0.32165 $\pm$ 0.01157	0.02753 $\pm$ 0.00071	8.85	6.054	11.74	2.108
X	0.30613	0.02512	7.34	6.81	9.74	1.723
S.D	0.14027	0.00048	2.57	1.263	3.4	0.488

**TABLA V.59.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 5% de azona.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION					
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$
1	0.21973 $\pm$ 0.01103	0.02676 $\pm$ 0.00115	5.880	6.228	0.070	1.2549
2	0.18093 $\pm$ 0.00968	0.03425 $\pm$ 0.00162	6.197	4.866	0.074	1.4230
3	0.27819 $\pm$ 0.00919	0.01708 $\pm$ 0.00443	4.752	9.758	0.057	0.8239
X	0.22628	0.02603	5.609	6.951	0.067	1.1673
S.D	0.04896	0.00861	0.759	2.524	0.009	0.309

**TABLA V.60.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 10% de azona.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.21883 $\pm$ 0.01384	0.02217 $\pm$ 0.00117	4.840	7.518	0.053	0.875	
2	0.21195 $\pm$ 0.01438	0.02417 $\pm$ 0.00138	5.123	6.896	0.056	0.960	
3	0.18236 $\pm$ 0.00790	0.03587 $\pm$ 0.00138	6.541	4.646	0.072	1.385	
4	0.21727 $\pm$ 0.01464	0.02165 $\pm$ 0.00120	4.704	7.698	0.051	0.842	
X	0.20748	0.02597	5.302	6.689	0.058	1.015	
S.D	0.01698	0.00669	0.844	1.405	0.009	0.251	

**TABLA V.61.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 5% de d-limoneno.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.19014 $\pm$ 0.00372	0.02952 $\pm$ 0.00040	5.61	5.65	0.079	4.562	
2	0.05988 $\pm$ 0.01498	0.07686 $\pm$ 0.01642	4.60	2.17	0.065	4.448	
3	0.06013 $\pm$ 0.01460	0.07654 $\pm$ 0.01587	4.60	2.18	0.065	4.446	
4	0.21072 $\pm$ 0.00311	0.02540 $\pm$ 0.00025	5.35	6.56	0.075	4.137	
X	0.13022	0.05208	5.04	4.14	0.071	4.398	
S.D	0.08151	0.02848	0.52	2.30	0.007	0.182	

**TABLA V.62.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_l$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 10% de d-limoneno.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_l$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.05633 $\pm$ 0.01836	0.15340 $\pm$ 0.04613	8.64	1.09	0.101	7.298	
2	0.15800 $\pm$ 0.00499	0.04263 $\pm$ 0.00103	6.74	3.91	0.079	4.987	
3	0.05770 $\pm$ 0.00261	0.10824 $\pm$ 0.04366	6.25	1.54	0.073	5.169	
4	0.17003 $\pm$ 0.00377	0.03690 $\pm$ 0.00060	6.27	4.52	0.074	4.505	
X	0.11052	0.08529	6.97	2.76	0.080	5.490	
S.D	0.06197	0.05576	1.13	1.70	0.014	1.238	

**TABLA V.63.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_1$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 5% de miristato de isopropilo.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION						
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_1$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$	
1	0.19180 $\pm$ 0.00965	0.02193 $\pm$ 0.00068	4.21	7.60	0.055	2.846	
2	0.19626 $\pm$ 0.01660	0.01929 $\pm$ 0.00096	3.79	8.64	0.050	2.409	
3	0.18411 $\pm$ 0.01517	0.02783 $\pm$ 0.00154	5.12	5.99	0.067	3.798	
4	0.04509 $\pm$ 0.01709	0.05683 $\pm$ 0.01732	2.56	2.93	0.034	2.220	
5	0.13335 $\pm$ 0.01704	0.05773 $\pm$ 0.00595	7.70	2.89	0.101	6.685	
6	0.16947 $\pm$ 0.02385	0.05417 $\pm$ 0.00607	9.18	3.08	0.120	7.900	
7	0.28482 $\pm$ 0.01727	0.03527 $\pm$ 0.0154	10.05	4.73	0.132	7.964	
8	0.19409 $\pm$ 0.01684	0.03342 $\pm$ 0.00206	6.49	4.99	0.085	5.073	
X	0.17487	0.03831	6.14	5.10	0.080	4.862	
S.D	0.06749	0.01579	2.68	2.18	0.035	2.403	

**TABLA V.64.-** Valores individuales de los parámetros de permeación ( $P_1$  y  $P_2$ ), constante de permeabilidad ( $K_p$ ), periodo de latencia ( $T_1$ ), flujo ( $J$ ), y cantidad permeada durante las primeras 24 h de la experiencia ( $Q_{24}$ ); así como los valores promedio acompañados de su correspondiente desviación estándar, obtenidos en los ensayos de permeación de nicardipino en presencia de un 10% de miristato de isopropilo.

CELULA	PARAMETROS DE PERMEACION							
	$P_1 \pm S.D$	$P_2 \pm S.D$	$K_p \cdot 10^3$	$T_1$	$J \cdot 10^2$	$Q_{24}$		
1	0.28401 $\pm$ 0.01046	0.03229 $\pm$ 0.00082	9.17	5.16	0.078	4.612		
2	0.34305 $\pm$ 0.01520	0.02571 $\pm$ 0.00073	8.82	6.48	0.075	4.128		
3	0.36031 $\pm$ 0.01413	0.02529 $\pm$ 0.00063	9.11	6.59	0.077	4.239		
4	0.44537 $\pm$ 0.01860	0.01433 $\pm$ 0.00030	6.38	11.63	0.054	2.188		
5	0.25270 $\pm$ 0.01229	0.02644 $\pm$ 0.00083	6.68	6.30	0.057	3.158		
6	0.31680 $\pm$ 0.01381	0.02054 $\pm$ 0.00053	6.51	8.11	0.055	2.772		
7	0.32016 $\pm$ 0.01809	0.01501 $\pm$ 0.00043	4.81	11.10	0.041	1.704		
8	0.34210 $\pm$ 0.01288	0.01911 $\pm$ 0.00041	6.54	8.72	0.056	2.686		
X	0.33306	0.02234	7.25	8.01	0.062	3.186		
S.D	0.05711	0.00618	1.59	2.35	0.013	1.045		

## VI. DISCUSION

En la presente Memoria, se ha investigado, en primer estadio, las características de permeación transdérmica de una serie de dihidropirinas y, en un segundo estadio, con los fármacos estudiados que resultaron ser los más idóneos para ser formulados en formas de administración transdérmica (SAT), se ha estudiado la influencia que pudieran tener sobre ellos diversos promotores de la permeación en su penetración cutánea.

Antes de abordar los estudios de permeabilidad cutánea de los fármacos ensayados (nifedipino, nomodipino, nitrendipino, felodipino y nicardipino), se calcularon los parámetros fisicoquímicos más relacionados con las características de permeabilidad a través de la piel de los fármacos investigados: solubilidad en el vehículo y lipofilia de los principios activos.

**TABLA VI.1.-** Valores de solubilidad (S), coeficiente de reparto aparente octanol-agua (P) y factor de capacidad extrapolado al 100% agua ( $K_w$ ), correspondientes a los fármacos estudiados. (n=3, excepto para P, que n=5).

FARMACO	S (mg/ml)	P	$K_w$
NIFEDIPINO	4.83 ± 0.04	1387.2 ± 145.7	188.6 ± 2.5
NIMODIPINO	2.56 ± 0.15	10760.1 ± 1777.4	1695.8 ± 6.5
NITRENDIPINO	3.02 ± 0.05	9621.8 ± 1254.9	891.2 ± 6.0
FELODIPINO	4.59 ± 0.70	7322.1 ± 1858.0	2614.3 ± 11.9
NICARDIPINO	17.87 ± 0.15	6545.0 ± 1637.0	156.0 ± 3.9

En todos los casos el vehículo utilizado ha sido una solución hidroalcohólica al 50% y la estimación de las concentraciones de fármaco en todos los estudios realizados en la presente Memoria, se ha realizado por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE), resultando ser una metódica exacta y precisa con un coeficiente de variación (%CV) comprendido entre

## Discusión

---

0.25 % y 9.40 % y, un error relativo (%E) comprendido entre -7.92% y 5.61%.

El fármaco que presentó una mayor solubilidad en el vehículo resultó ser el nicardipino ( $17.87 \pm 0.15$  mg/ml) seguido del nifedipino y del felodipino ( $4.83 \pm 0.04$  mg/ml y  $4.59 \pm 0.70$  mg/ml), siendo el nimodipino el que presenta una menor solubilidad ( $2.56 \pm 0.15$ ) (TABLA VI.1). La solubilidad del fármaco en el vehículo, tal como se comentará posteriormente, ejerce una gran influencia en la penetración cutánea de los fármacos pudiendo actuar como factor limitativo en su formulación en forma de (SAT).

El mayor valor para el coeficiente de reparto octanol-agua ( $P$ ), corresponde al nimodipino ( $p = 10760.1 \pm 1777.4$ ) y el menor al nifedipino ( $1387.2 \pm 145.7$ ), de acuerdo con los valores expuestos en el CUADRO I. Para los valores del factor de capacidad cromatográfico extrapolado al 100% de agua como solvente ( $K_w$ ), el más bajo también corresponde al nifedipino ( $188.6 \pm 2.5$ ) pero, el más alto no corresponde al nimodipino sino al felodipino ( $2614 \pm 11.9$ ) (TABLA I). Esta discrepancia, puede ser debido a diferencias en la ionización de los fármacos en los solventes que los contienen. No obstante, de acuerdo con BARRY (1), el coeficiente de reparto octanol-agua, es el valor experimental más representativo del reparto del fármaco entre el vehículo y el estrato córneo; por este motivo, se utilizará este parámetro como exponente de la lipofilia de los fármacos estudiados.

La discusión de los resultados obtenidos en la presente Memoria acerca de las características de permeación cutánea de los fármacos estudiados, puede dividirse en dos partes. Una parte que engloba los siguientes epígrafes:

- a) Estudio comparativo de los parámetros de permeación de las dihidropiridinas estudiadas.
- b) Predicción de las concentraciones en estado de equilibrio estacionario de los antagonistas del calcio sometidos a estudio.

y una segunda parte, constituida por los siguientes puntos:

- c) Influencia de los penetrantes ensayados en la penetración transdérmica de los fármacos seleccionados para ser formulados en forma *SAT*.
- d) Predicción de las concentraciones en estado de equilibrio estacionario de los fármacos seleccionados en presencia de penetrante.

### 1 Estudio comparativo de los parámetros de permeación de las dihidropiridinas estudiadas.

El período de latencia ( $T_1$ ), de acuerdo con FLYNN y STEWARD (2), constituye el primer obstáculo en la penetración transdérmica de los fármacos y, puede considerarse la primera limitación para que los principios activos puedan formularse en formas de administración transdérmica (*SAT*). En el presente trabajo, se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre los valores medios del período de latencia obtenidos para los fármacos estudiados (TABLA VI.2). El valor más alto corresponde al nimodipino ( $33.0 \pm 4.5$  h) y el más bajo al nifedipino ( $5.1 \pm 1.0$  h). Considerando que el tiempo de exposición sobre la piel de un *SAT*, generalmente, está comprendido entre 24 y 72 horas, con excepción del nimodipino y felodipino, en principio, el período de latencia sería un factor limitante para formular los demás fármacos en formas de liberación transdérmica.

En opinión de los autores citados anteriormente, la segunda limitación para que los fármacos puedan formularse en forma *SAT*, es que posean una baja constante de permeabilidad ( $K_p$ ). Los resultados experimentales obtenidos en la presente Memoria, concretan que se presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ), entre los valores medios de  $K_p$  correspondientes a los fármacos estudiados. En esta caso, el valor más alto corresponde al nicardipino ( $4.9 \cdot 10^{-3} \pm 1.5 \cdot 10^{-3}$  cmh<sup>-1</sup>)y, el más bajo al nifedipino ( $1.7 \cdot 10^{-3} \pm 0.3 \cdot 10^{-3}$  cmh<sup>-1</sup>) (CUADRO II). Si se considera, que los valores de  $K_p$  en el presente trabajo han sido obtenidos utilizando piel de rata desnuda como membrana de permeación y, asumiendo que la permeación de los fármacos a través de este tipo de membrana es tres veces de promedio superior respecto al empleo de la piel humana (3); nuestros resultados son del mismo orden que los obtenidos utilizando piel humana con la clonidina ( $3.82 \cdot 10^{-3}$  cmh<sup>-1</sup>) y

la nicotina ( $2.96 \cdot 10^{-3} \text{ cmh}^{-1}$ ) (4), y más bajos que los hallados para la nitroglicerina ( $20 \cdot 10^{-3} \text{ cmh}^{-1}$ ) (5). Las consideraciones anteriormente comentadas permiten concluir que sólo para el nifedipino la constante de permeabilidad de los fármacos ensayados le impediría ser formulado en forma de SAT. Debe también tenerse en cuenta, que un fármaco para ser candidato a formularse en formas de administración transdérmica debe alcanzar un flujo ( $J$ ) adecuado, el cual permita a partir de la forma farmacéutica, una entrada idónea de principio activo al organismo.

**TABLA VI.2.-Resumen estadístico (test de Perizt) correspondiente a los parámetros de permeación de los fármacos reseñados.**

Clave: a.- diferencias estadísticamente significativas ( $<0.05$ ) con nifedipino, b.- diferencias estadísticamente significativas ( $<0.05$ ) con nimodipino, c.- diferencias estadísticamente significativas ( $<0.05$ ) con nitrendipino, d.- diferencias estadísticamente significativas ( $<0.05$ ) con felodipino.

FARMACO	PARAMETRO		
	$K_p$ ( $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1} \cdot 10^{-3}$ )	$J$ ( $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot 10^{-2}$ )	$T_1$ (h)
NIFEDIPINO	$1.7 \pm 0.3$	$0.82 \pm 0.01$	$5.1 \pm 1.0$
NIMODIPINO	$2.6 \pm 0.7^a$	$0.67 \pm 0.19^a$	$33.0 \pm 4.5^a$
NITRENDIPINO	$3.9 \pm 0.5^{a,b}$	$1.18 \pm 0.38^{a,b}$	$18.4 \pm 2.8^{a,b}$
FELODIPINO	$4.0 \pm 0.6^{a,b,c}$	$1.84 \pm 0.25^{a,b,c}$	$9.8 \pm 2.6^{a,b,c}$
NICARDIPINO	$4.9 \pm 1.5^{a,b,c,d}$	$8.76 \pm 2.61^{a,b,c,d}$	$16.0 \pm 3.3^{a,b,c,d}$

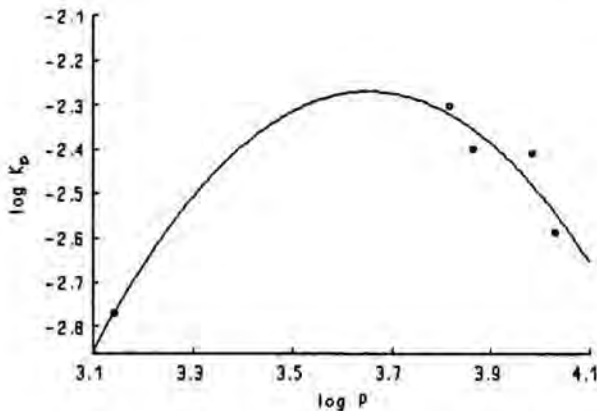
En el presente trabajo, se presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre los valores medios del flujo correspondientes a los fármacos estudiados (TABLA II). El valor más bajo de flujo corresponde al nimodipino ( $0.67 \cdot 10^{-2} \pm 0.19 \cdot 10^{-2} \text{ mgh}^{-1} \text{cm}^2$ ), y el más alto al nicardipino ( $8.76 \cdot 10^{-2} \pm 2.61 \cdot 10^{-2} \text{ mgh}^{-1} \text{cm}^2$ ). Analizados los resultados obtenidos en la presente Memoria para los parámetros representativos de la permeación transdérmica de los fármacos estudiados bajo la óptica de las consideraciones expuestas anteriormente, en principio, los fármacos potencialmente útiles para ser administrados en forma de SAT, son el

felodipino y el nicardipino. En efecto, de acuerdo con el TABLA I y el TABLA II, estos fármacos poseen una buena solubilidad en el vehículo así como, los valores más altos de la constante de permeabilidad ( $K_p$ ) y del flujo ( $J$ ). La limitación que pueden presentar estos fármacos para formularse en forma de *SAT*, es el valor que presentan para el período de latencia ( $T_l$ ) que en la formulación ensayada resulta ser demasiado elevado.

En otro orden de cosas, los estudios de predicción de la constante de permeación ( $K_p$ ) realizados en la presente Memoria aplicando las ecuaciones descritas en el epígrafe del Capítulo II, la ecuación que mejor ajusta los valores de  $K_p$ , de acuerdo con el criterio de MAICE, es la ecuación parabólica usando el valor del coeficiente de reparto octanol-agua, como parámetro fisicoquímico predictivo. La representación gráfica de la correlación parabólica se expone en la FIGURA VI.1, cuya ecuación matemática es :

$$\log K_p = 68,891 + 15,184 (\log P) - 0,905 (\log P)^2 \quad (\text{Ec. 1})$$

con un coeficiente de correlación,  $r = 0,984$  ( $p < 0,01$ ).



**Figura VI.1.-**Representación gráfica de la correlación parabólica entre log de  $K_p$  y log de  $P$ .

Respecto a la correlación parabólica obtenida, puede concretarse que fué sugerida por primera vez por HANSCH y CLAYTON (6) que correlacionan la actividad farmacológica de diversos fármacos, con parámetros representativos de su lipofilia, en particular, su coeficiente de reparto. Puede justificarse este tipo de correlación, por el hecho de que los fármacos, para alcanzar su biofase, deben atravesar una serie de barreras constituidas por capas hidrófilas y lipófilas alternativamente

("random walk") (7).

Este tipo de correlaciones, han sido usadas para predecir la constante de absorción intestinal ( $K_a$ ) de distintas series homólogas de compuestos a partir de sus parámetros de lipofilia, concretamente el coeficiente de reparto ( $P$ ). La aparente correlación parabólica hallada entre  $\log K_a$  y  $\log P$  por diversos autores (8, 9, 10), asume que la membrana intestinal está conformada por una barrera heterogénea compuesta alternativamente por fases acuosas y lipófilas. No obstante, otros modelos han sido propuestos para explicar la absorción de los fármacos a nivel intestinal (11, 12, 13, 14) con los cuales se obtiene una buena predicción de la constante de absorción intestinal. La estructura pluricelular de la dermis completa, muestra una serie de barreras lipófilas (formadas por la membrana celular) e hidrófilas, representadas por el citoplasma de las células, estructura que, en principio, puede adaptarse al modelo propuesto por HANSCH. En efecto, la relación entre la permeabilidad transdérmica y el coeficiente de reparto, tal como se ha comentado anteriormente, se ajusta a una función parabólica, hecho que pone de manifiesto la utilidad de este modelo probabilístico en la predicción de la constante de permeabilidad de los fármacos. En este sentido, cabe comentar, que correlaciones parabólicas entre la constante de permeabilidad y parámetros de lipofilia, también han sido hallados por otros autores para distintos fármacos (15, 16).

## **2 Predicción de las concentraciones en estado de equilibrio estacionario de los antagonistas del calcio sometidos a estudio.**

A pesar del fondo especulativo que conlleva la extrapolación de los resultados obtenidos en el animal de experimentación, en nuestro caso la rata, al organismo humano, en la presente Memoria se ha realizado un intento de predecir la potencial utilidad, a nivel terapéutico, de los fármacos estudiados administrados en forma de *SAT* a la especie humana. Para ello, se asumen los siguientes puntos:

- a) Se considera la aplicación de un parche de 16 cm<sup>2</sup>, superficie razonable para una forma farmacéutica de aplicación transdérmica.
- b) De acuerdo con CLEARY (3), se considera que el paso de los fármacos a través de la piel de rata desnuda es, de promedio, tres veces superior que el paso a través de piel humana.

- c) La dosis de fármaco para su administración transdérmica, se estima según FLYNN (2), a partir de la dosis oral y del efecto de primer paso que sufre el fármaco, por aplicación directa de la ecuación del epígrafe del Capítulo II.

A partir de estas premisas y, en función de los valores de los parámetros farmacocinéticos de los fármacos ensayados, concretamente, efecto de primer paso, biodisponibilidad, semivida de eliminación y aclaramiento plasmático así como, la dosis oral y la concentración plasmática terapéutica (17, 18, 19, 20), mediante las ecuaciones expuestas en el epígrafe del Capítulo II, se han estimado las concentraciones en estado de equilibrio estacionario que se obtendrían, con las condiciones expuestas anteriormente (TABLA III).

**TABLA VI.3.-** Valores correspondientes a la dosis oral(a), dosis transdérmica teórica (b), cantidades de fármaco permeadas durante las primeras 24h (c), cantidad permeada predicha en condiciones de estado de equilibrio estacionario (d), concentraciones plasmáticas predichas en estado de equilibrio estacionario (e), concentraciones plasmáticas terapéuticas (f) y aclaramiento plasmático (g), correspondientes a los fármacos reseñados.

FARMACO	$D_0^a$ (mg)	$D_t^b$ (mg)	$X_{24}^c$ (mg)	$D_{ss}^d$ (mg)	$C_{ss}^e$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$C_t^d$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$Cl^g$ (l/h)
NIFEDIPINO	30	13.05	0.877	1.05	0.53	6-51	83.0
NIMODIPINO	60	6.60	0.108	0.86	0.61	31	58.8
NITRENDIPINO	30	6.00	0.605	1.51	0.43	5-40	144.9
FELODIPINO	15	2.10	1.427	2.36	1.99	11-18	49.4
NICARDIPINO	60	14.10	4.459	11.21	13.90	6-40	33.6

Los resultados expuestos en el TABLA III, ponen de manifiesto que, el felodipino es el único fármaco que presenta un valor para la cantidad permeada en estado de equilibrio estacionario ( $D_{ss}$ ), más alto que la dosis transdérmica ( $D_t$ ) estimada. A pesar de que el mayor valor para el flujo lo presenta el nicardipino (TABLA II), el hecho de que el felodipino sufra un alto efecto de primer paso y que su actividad farmacológica intrínseca sea

elevada, puede ser la explicación del alto valor de  $D_{ss}$  obtenido para este fármaco.

Por otra parte, desde un punto de vista de aplicación terapéutica de los fármacos ensayados formulados en formas de aplicación transdérmica, en las condiciones consideradas en la presente Memoria, sólo el nicardipino alcanza concentraciones en estado de equilibrio estacionario ( $C_{ss}$ ) superiores a su concentración terapéutica, según se expone en el TABLA III. Por este motivo, de acuerdo con los resultados obtenidos en la presente Memoria, el nifedipino, nimodipino, felodipino y nitrendipino, en principio, no serían fármacos idóneos para ser formulados en formas de *SAT*.

Sin embargo, el felodipino, dado que es el único fármaco de la serie estudiada con el que se obtiene un valor para  $D_{ss}$  superior al valor de  $D_t$  (TABLA III), puede considerarse, en primera instancia, junto con el nicardipino los fármacos de elección con posibilidades de ser formulados en formas de administración transdérmica. Debe considerarse, como factor negativo en la elección de estos dos fármacos, el elevado período de latencia que presentan (TABLA II); teniendo en cuenta, que se acepta de forma razonable un período de latencia no superior al 10% del tiempo de exposición del *SAT* que, en general es de 3 días.

Los resultados experimentales obtenidos en esta primera parte de la presente Memoria; permiten concluir que, tanto cuando se consideran los valores de los parámetros de permeación obtenidos con la serie de fármacos estudiados (epígrafe a) de la discusión), como al considerar las concentraciones en estado de equilibrio estacionario (epígrafe b) de la discusión); el nicardipino y el felodipino son los fármacos de elección para ser formulados en forma de *SAT*.

La contrastada influencia de los promotores de la permeación cutánea de los fármacos en mejorar sus parámetros de penetración transdérmica, ha sido la premisa bajo la cual se ha orientado la segunda parte de la presente Tesis. El objetivo del trabajo desarrollado en esta segunda parte, es averiguar si la presencia en las formulaciones de nicardipino y felodipino de promotores de la permeación cutánea, previamente seleccionados (azona, d-limoneno, miristato de isopropilo), mejoran los parámetros de permeación de estos

fármacos de forma que puedan ser utilizados en terapéutica administrados en forma de *SAT*.

La discusión de los resultados obtenidos, se desglosa a continuación.

### **3 Influencia de los penetrantes en la permeación del nicardipino y del felodipino.**

Los resultados obtenidos en la experiencia realizada con los cinco fármacos antagonistas del calcio ensayados en la presente Memoria, estudiando su permeabilidad a través de la piel, tal como se ha comentado anteriormente, en principio, el nicardipino y el felodipino pueden considerarse como candidatos a ser formulados en formas farmacéuticas para administración transdérmica.

Con objeto de dilucidar si la utilización de sustancias promotoras de la penetración de fármacos a través de la piel, mejoran sustancialmente las características de penetración transdérmica de los fármacos seleccionados, se han ensayado tres tipos de penetrantes representativos de cada una de las áreas en que se engloban las distintas sustancias utilizadas para este fin de acuerdo con lo expuesto en el epígrafe 2.6 del CAPITULO VI.7.

#### **3.1 Influencia de los penetrantes en los parámetros de permeación del nicardipino**

Respecto al nicardipino, el estudio realizado entre los valores medios de la constante de permeación ( $K_p$ ), flujo ( $J$ ) y período de latencia ( $T_l$ ) correspondientes a las experiencias realizadas sin y con penetrante, pone de manifiesto (TABLA VI.4) que no se presentan diferencias estadísticamente significativas para  $K_p$  y  $J$ . Sin embargo sí se presentan diferencias estadísticamente significativas para el período de latencia ( $T_l$ ). Consecutivamente al test de comparación múltiple realizado (test de Sheffé), se concreta, que las diferencias observadas se ponen de manifiesto entre la formulación que no contiene penetrante y el resto de las formulaciones con presencia de penetrante (TABLA VI.5).

**TABLA VI.4.- Estudio estadístico de la influencia de los penetrantes en los parámetros de penetración del nicardipino.**

Parámetro	Test estadístico	Significación
$K_p$ (cm.h <sup>-1</sup> )	Kruskall-Wallis	p = 0.1141
J (mg.h <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Kruskall-Wallis	p = 0.2067
T <sub>1</sub> (h)	ANOVA	p < 0.00001

**TABLA VI.5.- Valores de la constante de permeabilidad ( $K_p$ ), flujo (J), período de latencia (T<sub>1</sub>) y solubilidad, correspondientes al nicardipino en ausencia y presencia de penetrantes.**

PENETRANTE	$K_p$ (cm.h <sup>-1</sup> .10 <sup>3</sup> )	J (mg.h <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> ·10 <sup>2</sup> )	T <sub>1</sub> (h)	Solubilidad (mg/ml)
Sin penetrante	4.900 ± 1.500	8.76 ± 2.61	16.000 ± 3.3	17.87
Azona 1%	7.345 ± 2.568	9.74 ± 3.40	6.813 ± 1.263	13.26
Azona 5%	5.609 ± 0.759	6.73 ± 0.91	6.951 ± 2.524	12.0
Azona 10%	5.302 ± 0.844	5.80 ± 0.92	6.689 ± 1.405	10.94
d-Limoneno 5%	5.040 ± 0.520	7.10 ± 0.70	4.140 ± 2.300	14.09
d-Limoneno 10%	6.970 ± 1.130	8.00 ± 1.40	2.760 ± 1.700	11.73
MIP 5%	6.140 ± 2.680	8.00 ± 3.50	5.100 ± 2.180	13.09
MIP 10%	7.250 ± 1.590	6.20 ± 1.30	8.010 ± 2.350	8.49

Clave: <sup>a</sup> diferencias significativas (p<0.05) respecto a sin penetrante. MIP miristato de isopropilo.

Desde un punto de vista estadístico, puede concluirse, que para el nicardipino ninguno de los penetrantes ensayados; azona, d-limoneno y miristato de isopropilo, han modificado las características de permeación del fármaco en lo que respecta a los valores de la constante de permeación y el flujo.

También, desde un punto de vista estadístico, todos los penetrantes ensayados mejoran el período de latencia acortándolo significativamente de un valor máximo de 16 horas, en ausencia de penetrante, a un valor mínimo de 2,7 horas cuando se emplea d-limoneno al 10%.

Sin embargo, si se consideran los valores relativos obtenidos para estos parámetros cuando se utilizan distintos penetrantes o diversos porcentajes de un mismo penetrante, puede obtenerse una información más ilustrativa acerca del comportamiento de estas sustancias, en la permeación del nicardipino.

Tal como se expone en la TABLA VI.5, en el caso de  $K_p$ , la adición de penetrante en la formulación siempre disminuye el valor de este parámetro al igual que ocurre con el flujo, que sólo se incrementa cuando se utiliza azona al 1%, disminuyendo cuando se emplean porcentajes superiores de penetrante.

De acuerdo con las ecuaciones 19 y 23 del CAPITULO II:

$$J_r = \chi_r \cdot D_r \cdot C_r \quad (\text{Ec. 1})$$

y

$$K_{p_r} = \chi_r \cdot D_r \quad (\text{Ec. 2})$$

puede concretarse, en base a los resultados expuestos en la TABLA VI.6, que al aumentar el porcentaje de azona en las formulaciones disminuye el coeficiente relativo de actividad del fármaco (0.667 cuando se utiliza azona al 1% y 0.430 cuando el porcentaje es del 10%). La disminución del valor de  $K_p$  al aumentar el porcentaje de azona (ver TABLA VI.5) es debido, a este descenso del coeficiente de actividad del fármaco ya que, de acuerdo con el valor obtenido para el índice relativo del coeficiente de difusión, la difusión del fármaco a través de la piel no se modifica en el ámbito de concentraciones de azona utilizado. Al aumentar la concentración de azona en las formulaciones, disminuye  $K_p$ , pero siempre se mantiene su valor por

encima del obtenido en ausencia de penetrante ( $IK_p$  está comprendido entre 1.57 y 1.03).

**TABLA VI.6.-** Influencia de los penetrantes en los parámetros de permeación del nicardipino.

PENETRANTE	<sup>b</sup> $\chi_r$	<sup>c</sup> $D_r$	<sup>d</sup> $IK_p$	<sup>e</sup> $C_r$	<sup>f</sup> $IJ$
Azona 1%	0.667	2.35 ± 0.05	1.57	0.74	1.16
Azona 5%	0.469	2.30 ± 0.36	1.08	0.67	0.72
Azona 10%	0.430	2.39 ± 0.007	1.03	0.61	0.63
d-Limoneno 5%	0.270	3.87 ± 1.35	1.05	0.79	0.83
d-Limoneno 10%	0.229	5.80 ± 2.37	1.32	0.66	0.87
<sup>a</sup> MIP 5%	0.363	3.14 ± 0.69	1.13	0.73	0.82
<sup>a</sup> MIP 10%	0.691	2.00 ± 0.17	1.38	0.48	0.66

Clave: <sup>a</sup> Miristato de isopropilo. <sup>b</sup> índice relativo del coeficiente de actividad. <sup>c</sup> índice relativo del coeficiente de difusión. <sup>d</sup> influencia de  $\chi_r$  y  $D_r$  en la constante de permeabilidad. <sup>e</sup> concentración relativa de fármaco en el vehículo con y sin penetrante. <sup>f</sup> influencia de  $\chi_r$ ,  $D_r$  y  $C_r$  en el flujo.

El incremento en las concentraciones de azona en las formulaciones de nicardipino ensayadas, hace descender el valor del flujo (TABLA VI.5) al aumentar el porcentaje de penetrante. En este caso, este descenso es debido a que las disminuciones en el índice relativo del coeficiente de actividad ( $\chi_r$ ) y en la concentración de fármaco en el vehículo en presencia y ausencia de penetrante ( $C_r$ ) no pueden ser contrarrestadas por el incremento relativo del coeficiente de difusión ( $D_r$ ), tal como se expone en la TABLA VI.6. Al aumentar el porcentaje de azona, el flujo únicamente aumenta, respecto a la formulación sin penetrante, cuando la concentración del penetrante es del 1%; a concentraciones mayores, el valor de este parámetro disminuye (TABLA VI.5). Este hecho es debido a que con la presencia de azona al 1%,

la influencia del penetrante en el índice relativo del coeficiente de actividad, del coeficiente de difusión y de la solubilidad del fármaco proveen para  $IJ$  un valor superior a la unidad (TABLA VI.6).

por otra parte, teniendo en cuenta la ecuación 16 del CAPITULO II:

$$D_r = \frac{[T_1]_{\text{sin penetrante}}}{[T_1]_{\text{con penetrante}}} \quad (\text{Ec. 3})$$

la presencia de distintas concentraciones de azona en las formulaciones, no modifican el valor del índice relativo del coeficiente de difusión (TABLA VI.6), por este motivo, los diferentes porcentajes empleados de este penetrante no modifican el período de latencia del nicardipino, de forma dependiente de la concentración, si bien, el período de latencia disminuye significativamente para el ámbito de concentraciones de penetrante ensayadas.

Cuando se utiliza el d-limoneno como penetrante, al aumentar el porcentaje del mismo, se incrementa el valor de la constante de permeabilidad del nicardipino (TABLA VI.5). En este caso, el incremento obtenido para  $K_p$  es debido al efecto que ejerce el d-limoneno sobre la difusión del fármaco a través de la piel. En efecto, de acuerdo con la TABLA VI.6, el valor para  $D_r$  es de 3.87 cuando se emplea un 5% de penetrante y de 5.80 cuando se utiliza un 10%, siendo prácticamente constante el efecto del d-limoneno sobre el coeficiente de actividad ( $\chi_r = 0.270$  en presencia de un 5% de penetrante y  $\chi_r = 0.229$  en presencia de un 10% de penetrante).

La influencia del d-limoneno sobre el flujo del nicardipino es menor que la ejercida por el penetrante sobre la constante de permeabilidad del fármaco, (TABLA VI.6)  $IJ = 0.87$  con un 10% de d-limoneno, consecuencia de que las diferencias de la solubilidad del nicardipino en el vehículo en presencia de distintos porcentajes de penetrante ( $C_r$ ) es poco significativa.

El efecto que ejerce el d-limoneno sobre la difusión del nicardipino a través de la piel y, de acuerdo con la ecuación 3, este penetrante, al igual que la azona, disminuye el período de latencia del fármaco (TABLA VI.5). Pero al

contrario que ocurría con aquella, este efecto en la disminución del período de latencia es dependiente de la concentración de d-limoneno presente en la formulación.

El miristato de isopropilo, por su parte, cuando se aumenta el porcentaje de penetrante en el vehículo presenta una tendencia a aumentar la constante de permeabilidad del nicardipino (TABLA VI.5). Este hecho es debido a que el miristato de isopropilo aumenta el coeficiente de actividad del fármaco, ya que este penetrante no presenta ningún efecto sobre la difusión del nicardipino a través de la piel (TABLA VI.6). Por otra parte, debido a que disminuye la solubilidad del fármaco en el vehículo al aumentar la concentración de miristato de isopropilo,  $C_r = 0.73$  para un 5% de penetrante y  $C_r = 0.48$  para un 10% de penetrante (TABLA VI.6), la influencia de este penetrante sobre el flujo del nicardipino es negativa,  $IJ = 0.82$  para un 5% de penetrante y  $IJ = 0.66$  para un 10% de penetrante (TABLA VI.6); por este motivo, cuando se aumenta el porcentaje de miristato de isopropilo en el vehículo, el flujo del nicardipino disminuye,  $J = 8.0 \text{ mg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot 10^2$  con un 5% de penetrante y  $J = 6.2 \text{ mg}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot 10^2$  con un 10% de penetrante (TABLA VI.5).

Como consecuencia de que el incremento de miristato de isopropilo en la formulación va paralelo a una disminución de la difusión del nicardipino a través de la piel  $D_r = 3.14$  cuando se utiliza un 5% de penetrante y  $D_r = 2.0$  cuando se utiliza un 10% de penetrante (TABLA VI.6), el aumento del porcentaje de penetrante en el vehículo conlleva un aumento del período de latencia del nicardipino (Ec. 2),  $T_1 = 5.10 \text{ h}$  con un 5% de penetrante y  $T_1 = 8.01 \text{ h}$  con un 10% de penetrante (TABLA VI.5).

Puede sugerirse, a la luz de estos resultados, que el d-limoneno penetrante que aumenta la difusión transdérmica de forma concentración dependiente del nicardipino, además de su acción sobre el estrato córneo como promotor de la penetración cutánea, podríamos suponer que engloba parte del fármaco y atraviesan conjuntamente la membrana de acuerdo con el trabajo publicado por WILLIAMS y col. (1), aumentando la penetración del fármaco a través de la piel en función de la concentración utilizada. Este fenómeno no se produce ni con el miristato de isopropilo ni con la azona, penetrantes

en los que el aumento sobre la difusión de la piel para el nicardipino no ha demostrado ser concentración dependiente en el ámbito estudiado, debido probablemente, en el caso de la azona, a que este penetrante queda atrapado en el estrato córneo tal como indica el trabajo publicado por SUCIBAYASHI (2) y teniendo en cuenta además que ya a bajas

concentraciones de azona el estrato córneo se satura de penetrante (3).

De acuerdo con nuestros resultados experimentales, el hecho de que al aumentar la concentración de azona en el vehículo, disminuye el flujo del nicardipino como consecuencia de que este penetrante disminuye el coeficiente de actividad del fármaco, están de acuerdo con los trabajos publicados por ITO y col. (3). Estos autores pusieron de manifiesto que la presencia de azona disminuía el coeficiente de actividad de fármacos hidrófobos como la sulfanilamina y la indometacina. También se ha constatado para otros fármacos que al aumentar la concentración de azona en el vehículo, disminuía su efecto como penetrante, especialmente para fármacos hidrófobos, aunque sin especificar el motivo concreto de este hecho (4). Así, por ejemplo, con fusidato sódico STOUGHTON (5), comprobó que con bajas concentraciones de azona se produce un aumento de su penetración transdérmica de dos a tres veces superior comparándolo con la no utilización de penetrante, pero cuando se aumenta la concentración de azona la penetración del fármaco disminuye. El mismo fenómeno fué puesto de manifiesto por este autor para la eritromicina coincidiendo, estos resultados, con los obtenidos con el trabajo realizado en la presente Memoria.

Por otra parte, hay que tener en cuenta, que tanto el alcohol como la azona fluidifican el estrato córneo aunque por mecanismos distintos. El alcohol deplecciona los lípidos del estrato córneo y la azona fluidifica el estrato córneo, disminuyendo la microviscosidad de la zona (2, 6, 7). También el d-limoneno disminuye la microviscosidad del estrato córneo (8) y, si se considera que en las formulaciones ensayadas, en todos los casos, la cantidad de alcohol empleada es constante, y asumiendo el efecto aditivo, en la acción del penetrante presente, la acción atribuible al etanol será la misma. En este punto, cabe considerar que la azona además de disminuir la microviscosidad

del estrato córneo, igual que el d-limoneno, aumenta la hidrofília del sustrato (2) acción que no produce el d-limoneno, el cual por su parte aumenta el reparto del fármaco en el estrato córneo (8). Estos hechos pueden explicar, desde un punto de vista mecanístico, la distinta penetrabilidad de la nicardipina (fármaco lipófilo) en función del penetrante empleado.

Es obvio que la azona al aumentar la hidrofília del sustrato, dificultará el paso a través del estrato córneo de fármacos hidrófobos como es el caso del nicardipino, dificultad, que será más acusada al aumentar la proporción de penetrante.

En definitiva, las diferencias mecanísticas en la acción de los penetrantes estudiados sobre el estrato córneo, por una parte, y las distintas influencias que ejercen sobre el coeficiente de actividad, el coeficiente de difusión y la solubilidad del nicardipino por otra, son las causas del distinto comortamiento de los penetrantes ensayados como promotores de penetración cutánea del antagonista del calcio observados en el presente trabajo al utilizar en el vehículo azona, d-limoneno y miristato de isopropilo a distintas proporciones. Cabe concluir que, en nuestras condiciones experimentales, el d-limoneno formulado al 10% ha resultado ser el promotor que produce un incremento significativo en la difusibilidad del nicardipino (hasta 5 veces el valor sin penetrante) sin que por desgracia dicho incremento repercuta de una forma relevante en la permeación del nicardipino.

### **3.2 Influencia de los penetrantes en los parámetros de permeación del felodipino**

Cuando se estudia la influencia de los penetrantes ensayados en los parámetros representativos de la penetración cutánea del felodipino, el estudio estadístico realizado (KRUSKAL-WALLIS) pone de manifiesto que, en todos los casos, se presentan diferencias estadísticamente significativas

( $p < 0.05$ ) entre los valores medios de la constante de permeabilidad ( $K_p$ ), flujo ( $J$ ) y período de latencia ( $T_1$ ) obtenidos experimentalmente en el presente trabajo con las formulaciones que contienen penetrante respecto a la formulación sin penetrante (TABLA VI.7).

**TABLA VI.7.- Estudio estadístico de la influencia de los penetrantes ensayados en los parámetros de permeación del felodipino.**

Parámetro	Test estadístico	Significación
$K_p$ (cm.h <sup>-1</sup> )	Kruskall-Wallis	$p < 0.00001$
$J$ (mg.h <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	Kruskall-Wallis	$p < 0.00001$
$T_1$ (h)	Kruskall-Wallis	$p < 0.00001$

Desde un punto de vista estadístico, puede comentarse, que a diferencia de los resultados obtenidos con el nicardipino (los penetrantes sólo hacen variar el período de latencia ( $T_1$ )), los promotores de la penetración cutánea ensayados; azona, d-limoneno y miristato de isopropilo, modifican todos los parámetros de permeación del felodipino.

En el caso de utilizar azona como penetrante, se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de los parámetros de permeación del felodipino cuando en las formulaciones está presente el penetrante respecto a las formulaciones sin penetrante (TABLA VI.8). Sin embargo, no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros de permeación del felodipino cuando en las formulaciones se utilizan proporciones distintas de azona (1% y 5%), de acuerdo con la TABLA VI.8. La azona, independientemente de la concentración utilizada, produce incrementos importantes en los parámetros de permeación del felodipino. En efecto, la constante de permeabilidad ( $K_p$ ) aumenta de  $4.0 \cdot 10^3 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$  sin penetrante a  $15.08 \cdot 10^3 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$  en presencia de azona al 1%. El mismo fenómeno se presenta con el flujo ( $J$ ), cuyo valor sin penetrante es de  $1.84 \cdot 10^2 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^2$  y en presencia de azona al 1% es de  $13.0 \cdot 10^2 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^2$ . Aunque en menor proporción que los otros

parámetros, la presencia de azona también influye en el período de latencia ( $T_l$ ) que pasa de 9.8 horas sin penetrante a 5.16 horas en presencia de azona al 1% (TABLA VI.8).

**TABLA VI.8.-** Resumen estadístico (U de Mann-Whithney) correspondiente a los parámetros de permeación del felodipino en presencia y ausencia de azona como penetrante.

PENETRANTE	PARAMETROS		
	$K_p$ (cm.h <sup>-1</sup> )	J (mg.h <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	$T_l$ (h)
Sin penetrante	4.00 ± 0.6	1.84 ± 0.25	9.80 ± 2.6
Azona 1%	15.028 ± 2.54 <sup>a</sup>	13.00 ± 2.20 <sup>a</sup>	5.161 ± 1.781 <sup>a</sup>
Azona 10%	13.666 ± 2.74 <sup>a</sup>	13.97 ± 2.91 <sup>a</sup>	5.289 ± 2.110 <sup>a</sup>

Clave: <sup>a</sup> diferencias estadísticamente significativas con respecto a "sin penetrante" ( $p < 0.05$ ). Entre las distintas concentraciones de penetrante no se presentan diferencias estadísticamente significativas (U de Mann-Withney) ( $p > 0.3865$ ).

Si se consideran las diferencias sobre los parámetros de permeación del felodipino, desde un punto de vista relativo, al aumentar el porcentaje de azona en las formulaciones ensayadas, el valor de la constante de permeabilidad del fármaco ( $K_p$ ) disminuye (TABLA VI.8). De acuerdo con las ecuaciones 1 y 2, que generan los resultados expuestos en la TABLA VI.10, la tendencia a disminuir el incremento observado sobre el valor de  $K_p$  del felodipino al aumentar el porcentaje de azona en el vehículo, es debido, a que (igual que en el caso del nicardipino) al aumentar el porcentaje de azona, disminuye el coeficiente de actividad del fármaco ( $\alpha_r$ ) y no se modifica su coeficiente de difusión ( $D_r$ ) a través de la piel. En cualquier caso, la presencia de azona siempre aumenta el valor de  $K_p$  del felodipino respecto a su valor en las formulaciones sin penetrante; siendo este aumento superior, en este caso, al obtenido con el nicardipino ( $IK_p = 1.22$  de promedio para el nicardipino y  $IK_p = 3.38$  de promedio para el felodipino) de acuerdo con los valores individuales de  $IK_p$  expuestos en las TABLAS VI.6 y VI.10.

Como consecuencia de que las distintas concentraciones de azona no influyen en el incremento de la difusión del felodipino ( $D_r$ ) a través de la piel observado en presencia de penetrante y, de acuerdo con la ecuación 3, igual que en el caso del nicardipino, la variación de las proporciones de penetrante no influye en el período de latencia ( $T_l$ ) del felodipino (TABLA VI.8). El hecho de que a bajas concentraciones de azona ya se sature el estrato córneo de penetrante (3), puede explicar que no se produzcan variaciones en la difusibilidad del felodipino a través de la piel al variar la proporción de penetrante. Estos resultados están de acuerdo con STOUGHTON (9), autor que puso de manifiesto que la penetración de la triamcinolona acetónido y de la amcinonide, medida por sus actividades vasoconstrictoras, no presentaban variaciones significativas si se utilizaba azona al 3% y 8% y al 2% y 5% respectivamente.

Cuando se formula el felodipino con d-limoneno como penetrante, independientemente de la concentración que se utilice, se presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) para todos los parámetros de permeación del fármaco respecto a la formulación sin penetrante (TABLA VI.9).

**TABLA VI.9.-** Resumen estadístico (*U de Mann-Whithney*) correspondiente a los parámetros de permeación del felodipino en presencia y ausencia de d-limoneno como penetrante.

PENETRANTE	PARAMETROS		
	$K_p$ (cm.h <sup>-1</sup> )	J (mg.h <sup>-1</sup> .cm <sup>-2</sup> )	$T_l$ (h)
Sin penetrante	4.00 ± 0.6	1.84 ± 0.25	9.80 ± 2.6
d-limoneno 0.5%	6.270 ± 0.96 <sup>a</sup>	4.70 ± 0.70 <sup>a</sup>	2.59 ± 0.25 <sup>a</sup>
d-limoneno 1%	11.110 ± 3.11 <sup>a</sup>	8.40 ± 2.30 <sup>a</sup>	1.40 ± 0.39 <sup>a,b</sup>
d-limoneno 5%	36.730 ± 6.94 <sup>a,b,c</sup>	32.60 ± 6.20 <sup>a,b,c</sup>	1.36 ± 1.00 <sup>a,b</sup>
d-limoneno 10%	13.666 ± 2.74 <sup>a,b,c,d</sup>	33.30 ± 4.90 <sup>a,b,c</sup>	1.14 ± 0.87 <sup>a,b</sup>

Clave: <sup>a</sup> diferencias estadísticamente significativas con respecto a "sin penetrante" ( $p < 0.05$ ). <sup>b</sup> diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con d-Limoneno 0.5%. <sup>c</sup> diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con d-Limoneno 1%. <sup>d</sup> diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con d-Limoneno 5%.

El aumento del porcentaje de d-limoneno en las formulaciones de felodipino, produce variaciones estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en la constante de permeabilidad ( $K_p$ ) del fármaco. Sin embargo, las diferencias relativas obtenidas para este parámetro aumentan al incrementar el porcentaje de d-limoneno, hasta alcanzar un máximo (5% de d-limoneno) para disminuir el valor de este parámetro cuando se emplea un 10% de penetrante (TABLA VI.9). Este resultado puede ser debido a que el d-

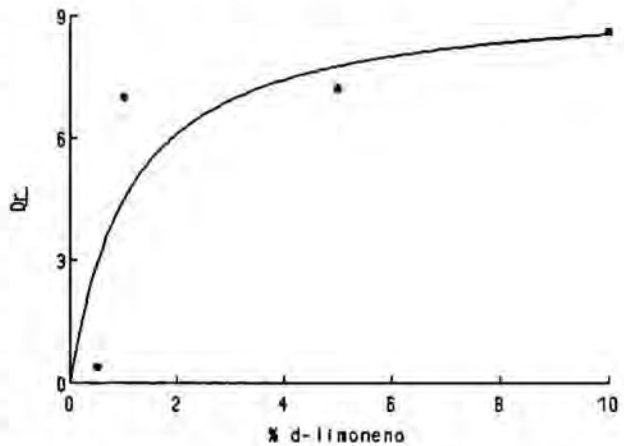


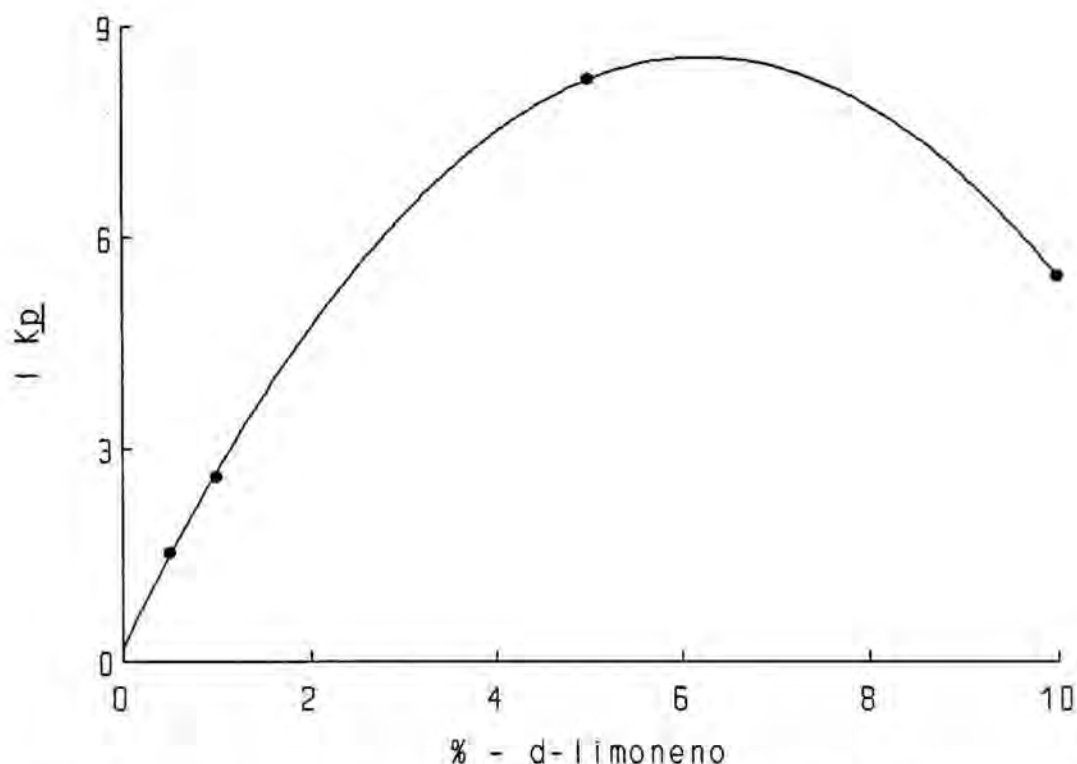
Figura VI.2.- Relación asintótica entre el porcentaje de d-Limoneno y el índice relativo del coeficiente de difusión ( $D_r$ ).

limoneno, aumenta la difusión del felodipino a través de la piel ( $D_r$ ) - efecto similar al que ejerce sobre el nicardipino - pero, por otra parte, al aumentar el porcentaje de penetrante, el coeficiente de actividad del fármaco ( $\chi_r$ ), a partir de un valor máximo ( $\chi = 1.141$  para un 5% de penetrante) disminuye, tal como se expone en la TABLA VI.10. Los resultados experimentales obtenidos en el presente trabajo, ponen de manifiesto que, la acción del d-limoneno en la difusión del felodipino a través de la piel, aumenta al incrementar el porcentaje de penetrante hasta alcanzar un valor máximo que se mantendría constante. Este hecho se traduce, desde un punto de vista matemático, en una relación asintótica entre el porcentaje de d-limoneno y el índice relativo del coeficiente de difusión ( $D_r$ ), tal como se expone en la FIGURA 1, asíntota cuya ecuación es:

$$D_r = \frac{A \cdot (\% \text{ d-limoneno})}{B + (\% \text{ d-limoneno})}$$

con un coeficiente de correlación significativo de  $r = 0.822$ .

Sin embargo, de acuerdo con la ecuación 2, al disminuir el coeficiente de actividad del felodipino a partir de una determinada concentración de d-limoneno presente en el vehículo (TABLA VI.10), la influencia global del penetrante sobre la constante de permeabilidad ( $K_p$ ) aumenta hasta un máximo para disminuir a continuación (TABLA VI.11). La interpretación



**Figura VI.3.-** Correlación parabólica entre el porcentaje de D-Limoneno y la influencia sobre la constante de permeabilidad del felodipino ( $IK_p$ ).

matemática del fenómeno queda reflejada en una correlación parabólica entre el porcentaje de d-limoneno y los correspondientes valores de la influencia sobre la constante de permeabilidad ( $IK_p$ ) del felodipino, cuya representación gráfica se expone en la FIGURA 2 siendo, su expresión matemática la siguiente:

$$IP = 0.1897 + 2.687\% \text{ d-limoneno} - 0.2163 (\% \text{ d-limoneno})^2$$

con un coeficiente de correlación significativo de  $r=0.99999$ .

Estos resultados están de acuerdo con los publicados por WILLIAMS y TAKAMAYA (8, 9), los cuales ponen de manifiesto que, la mayor penetración transdérmica del estradiol y del ketoprofeno se produce utilizando en la formulación una concentración óptima de d-limoneno.

**TABLA VI.10.-** Influencia de los penetrantes en los parámetros de permeación del felodipino.

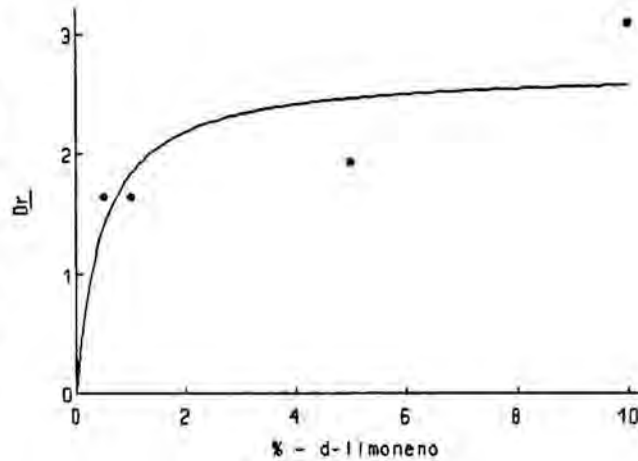
PENETRANTE	<sup>b</sup> $\chi_r$	<sup>c</sup> $D_r$	<sup>d</sup> $IK_p$	<sup>e</sup> $C_r$	<sup>f</sup> $IJ$
Azona 1%	1.88	1.90	3.57	1.89	6.75
Azona 5%	1.73	1.85	3.20	2.24	7.17
d-Limoneno 0.5%	0.405	3.78	1.53	1.64	2.51
d-Limoneno 1%	0.371	7.00	2.60	1.64	4.26
d-Limoneno 5%	1.141	7.21	8.23	1.93	15.88
d-Limoneno 10%	0.631	8.60	5.43	3.09	16.78
<sup>a</sup> MIP 5%	1.019	1.37	1.40	2.12	2.97
<sup>a</sup> MIP 10%	0.592	1.72	1.02	2.72	2.77

Clave: <sup>a</sup> Miristato de isopropilo. <sup>b</sup> índice relativo del coeficiente de actividad. <sup>c</sup> índice relativo del coeficiente de difusión. <sup>d</sup> influencia de  $\chi_r$  y  $D_r$  en la constante de permeabilidad. <sup>e</sup> concentración relativa de fármaco en el vehículo con y sin penetrante. <sup>f</sup> influencia de  $\chi_r$ ,  $D_r$  y  $C_r$  en el flujo.

El d-limoneno al incrementar su concentración en el vehículo, produce un aumento sobre la difusión del felodipino a través de la piel y, como consecuencia de que también un incremento del penetrante conlleva un aumento de la solubilidad del fármaco en el vehículo ( $C_r$ ), tal como se consigna en la TABLA VI.10, de acuerdo con la ecuación 1, la mayor presencia de penetrante en el vehículo influye directamente sobre el flujo del felodipino incrementando su valor. Los resultados experimentales obtenidos en la presente Memoria, reseñan que el aumento del flujo del felodipino en función de la concentración de d-limoneno, sería progresivo hasta alcanzar un valor máximo, secuencia que equivale a considerar la relación %d-h/J como una relación asintótica. En efecto, la relación %d-limoneno/J es una asíntota, tal como se representa en la FIGURA 3, cuya ecuación matemática es:

$$IJ = \frac{A(\%d\text{-limoneno})}{B+(\%d\text{-limoneno})}$$

con un coeficiente de correlación significativo de  $r=0.738$ . Estos resultados son concordantes con los publicados por FLYNN y STEWART (11). Estos autores postulan que para fármacos lipófilos, los terpenos a partir de una cierta cantidad de sustancia en presencia, no modifican la difusión de los fármacos.



El d-limoneno, a diferencia de la azona, disminuye el período de latencia ( $T_l$ ) del felodipino de forma dependiente del porcentaje de penetrante utilizado (el mismo efecto ejerce sobre el nicardipino), consecuencia, de acuerdo con la ecuación 3, de aumentar la difusión del fármaco ( $D_r$ ) a través de la piel al incrementar la proporción de penetrante en el vehículo (TABLA VI.10).

**Figura VI.4.-** Relación asintótica entre % de d-Limoneno y el incremento del flujo (IJ).

La utilización de miristato de isopropilo (MIP) como penetrante en las formulaciones de felodipino, los resultados obtenidos, ponen de manifiesto, que se presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre el valor obtenido para la constante de permeabilidad ( $K_p$ ) con un 5% de penetrante en la formulación, pero no, cuando se formula el penetrante en un porcentaje del 10% (TABLA VI.12). Este hecho es consecuencia de que el miristato de isopropilo, al aumentar su concentración en las formulaciones, disminuye el coeficiente de actividad ( $\chi_r$ ) del felodipino (TABLA VI.10).

**TABLA VI.11.-** Valores de la constante de permeabilidad ( $K_p$ ), flujo ( $J$ ), período de latencia ( $T_l$ ) y solubilidad, correspondientes al nifedipino en ausencia y presencia de penetrantes.

PENETRANTE	$K_p$ ( $\text{cm.h}^{-1} \cdot 10^{-3}$ )	$J$ ( $\text{mg.h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot 10^2$ )	$T_l$ (h)	Solubilidad (mg/ml)
Sin penetrante	4.000 ± 0.60	1.84 ± 0.25	9.80 ± 2.67	4.59
Azona 1%	15.018 ± 2.54	13.00 ± 2.20	5.161 ± 1.781	8.66
Azona 5%	13.665 ± 2.74	13.97 ± 2.91	5.289 ± 2.110	10.28
d-Limoneno 0.5%	6.270 ± 0.96	4.70 ± 0.70	2.59 ± 0.25	7.52
d-Limoneno 1%	11.110 ± 3.11	8.40 ± 2.30	1.40 ± 0.39	7.53
d-Limoneno 5%	36.730 ± 6.94	32.60 ± 6.20	1.36 ± 1.00	8.87
d-Limoneno 10%	23.490 ± 3.44	33.30 ± 4.90	1.14 ± 0.87	14.19
MIP 5%	5.700 ± 0.64	5.50 ± 0.60	7.16 ± 0.90	9.71
MIP 10%	4.280 ± 0.95	5.30 ± 1.20	5.71 ± 1.34	12.47

Clave: MIP miristato de isopropilo.

**TABLA VI.12.-** Resumen estadístico (*U* de Mann-Whithney) correspondiente a los parámetros de permeación del felodipino en presencia y ausencia de azona como penetrante.

PENETRANTE	PARAMETROS		
	$K_p$ ( $\text{cm.h}^{-1}$ )	$J$ ( $\text{mg.h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	$T_l$ (h)
Sin penetrante	4.00 ± 0.6	1.84 ± 0.25	9.80 ± 2.6 <sup>a</sup>
MIP 1%	5.70 ± 0.64 <sup>a</sup>	5.50 ± 0.60 <sup>a</sup>	7.16 ± 0.90 <sup>a</sup>
MIP 10%	4.28 ± 0.95	5.30 ± 1.20 <sup>a</sup>	5.71 ± 1.34 <sup>a</sup>

Clave: <sup>a</sup> diferencias estadísticamente significativas con respecto a "sin penetrante" ( $p < 0.05$ ). <sup>b</sup> diferencias estadísticamente significativas con MIP 5% ( $p < 0.05$ ).

Respecto al flujo ( $J$ ) del felodipino, se presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) para este parámetro, entre los valores obtenidos con las dos concentraciones de penetrante utilizado en las respectivas formulaciones, respecto a la formulación sin penetrante (TABLA VI.12). Sin embargo, no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para el flujo del felodipino cuando se formula el miristato de isopropilo al 5% y al 10% respectivamente (TABLA VI.12). Este hecho, es debido, de acuerdo con la ecuación 1, a que el descenso que produce el miristato de isopropilo en el coeficiente de actividad ( $\chi_r$ ) del felodipino, está contrarrestado, por el aumento que imprime el penetrante en la difusión ( $D_r$ ) del fármaco a través de la piel, manteniéndose, prácticamente constante, la solubilidad del fármaco ( $C_r$ ) en las formulaciones tanto en presencia del 5% como del 10% de penetrante (TABLA VI.10).

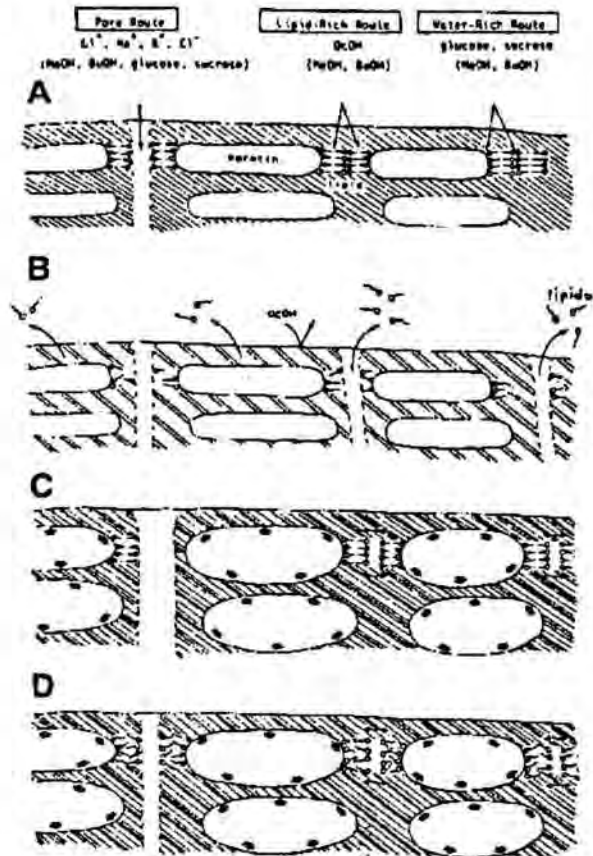
Para el período de latencia ( $T_1$ ), sólo se presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ), para el felodipino, respecto a la formulación sin miristato de isopropilo, cuando la formulación contiene un 10% de penetrante y, no se presentan diferencias estadísticamente significativas en el caso de que la formulación contenga un 5% de miristato de isopropilo (TABLA VI.12). La diferencia relativa en el período de latencia del felodipino obtenida cuando se emplea un 10% de miristato de isopropilo respecto a cuando se utiliza un 5% de penetrante, es debido, de acuerdo con la ecuación 3, al aumento de la difusión del fármaco ( $D_r$ ) al aumentar la concentración de penetrante (TABLA VI.10).

En el caso del felodipino, globalmente, teniendo en cuenta las propiedades mecánicas de los distintos promotores ensayados y su acción sobre el coeficiente de actividad, coeficiente de difusión y solubilidad del fármaco, la formulación más productiva en la permeabilidad a través de la piel del felodipino, ha resultado ser la que contiene d-limoneno a la concentración del 5%.

Como comentario general de los resultados experimentales obtenidos en la presente Memoria, respecto a la acción de los penetrantes ensayados, puede concluirse, en general, que tanto para el nicardipino como para el felodipino mejoran la permeabilidad cutánea de estos fármacos. Sin embargo, la influencia sobre la penetración transdérmica de los penetrantes estudiados sobre el nicardipino y felodipino, tal como se ha comentado en el transcurso de esta discusión, no es la misma y también se presentan diferencias para un mismo fármaco según el penetrante utilizado (TABLAS VI.5 y VI.11).

Estos resultados pueden interpretarse, desde un punto de vista global, en base de la acción de los penetrantes sobre la piel, por una parte y, por otra, por el efecto que ejercen estas sustancias sobre las propiedades fisicoquímicas íntimamente relacionadas con la penetrabilidad transdérmica de los fármacos.

En efecto, la azona actúa como penetrante fluidificando los lípidos lisosomiales y como consecuencia, disminuye la microviscosidad del estrato córneo y facilita el paso de los fármacos a través de la piel. Esta acción sobre los lípidos del estrato córneo es diferente de la que realiza el alcohol, pues éste deplecciona los lípidos de la zona. Por otra parte, la azona, no actúa directamente sobre las proteínas del estrato córneo, pero si actúa aumentando la hidrofilia del estrato córneo, tal como se expone en la FIGURA 4 (2). La azona, al hidratar la zona de



**Figura VI.5.- Mecanismos de acción de la azona.** A, piel normal. B, piel hidratada. C, acción del etanol. D, acción de la azona.

penetración ejerce menos acción como penetrante para los fármacos con características lipófilas. Por su parte, los terpenos en general y, el d-limoneno en particular, actúan como penetrantes desorganizando el orden estructural de los lípidos de los corneocitos e incrementando el paso intercelular de los fármacos. También los terpenos aumentan el paso de los fármacos a través del tejido cutáneo debido a que estos promotores interaccionan con las proteínas intercelulares de los corneocitos. Además estos promotores son susceptibles de mantener disueltos fármacos lipófilos y atravesar la

membrana conjuntamente (1). El d-limoneno, debido a que no hidrata la zona de absorción y como consecuencia de su acción sobre el estrato córneo, resulta ser un buen penetrante para fármacos lipófilos (12), y concretamente, mejor penetrante que la azona (13).

El miristato de isopropilo, presenta una menor actividad como promotor de la absorción y, aunque, su mecanismo de acción es poco conocido, se supone que facilita el paso de los fármacos a través del estrato córneo al disminuir la microviscosidad de esta zona anatómica, pero su acción es menor que la azona y el d-limoneno (2).

Debe tenerse en cuenta también, el efecto de los penetrantes estudiados sobre las propiedades fisicoquímicas de los fármacos ensayados relacionados con su penetración a través de la piel.

En este sentido, y de acuerdo con la TABLA VI.13, la acción de los penetrantes estudiados sobre el coeficiente de actividad ( $\chi_r$ ), el coeficiente de difusión ( $D_r$ ) y la solubilidad ( $C_r$ ) del nicardipino y del felodipino, es distinta. El d-limoneno tanto para el nicardipino como para el felodipino es el penetrante que provee un mayor efecto sobre las propiedades fisicoquímicas que inciden directamente sobre la permeabilidad cutánea de estos fármacos.

**TABLA VI.13.-** Acción de los penetrantes de referencia sobre el coeficiente de actividad relativo ( $\chi_r$ ), coeficiente de difusión relativa ( $D_r$ ), y solubilidad relativa ( $C_r$ ) del nicardipino y felodipino.

PENETRANTE	FARMACO					
	Nicardipino			Felodipino		
	$\chi_r$	$D_r$	$C_r$	$\chi_r$	$D_r$	$C_r$
Azona	↓	↑	↓	↑	↑	↑
d-Limoneno	↓	↑	↓	↓ <sup>a</sup>	↑↑	↑↑
MIP	↓	↑	↓	↓ <sup>b</sup>	↑	↑

Clave: <sup>a</sup> excepto para un 5% de d-Limoneno. <sup>b</sup> excepto para un 5% de MIP.

Puede concluirse, del trabajo experimental realizado en la presente Memoria, independientemente de las particularidades puntuales puestas de manifiesto en el transcurso de esta discusión y tal como se ha comentado anteriormente que, el d-limoneno al 5% para el felodipino ha resultado ser el promotor de elección.

#### 4 Predicción de la concentración en estado de equilibrio estacionario ( $C_{ss}$ ) del nicardipino y el felodipino que se obtendría con los penetrantes ensayados

De acuerdo con la ecuación número 15 del Capítulo II,

$$C_{ss} = \frac{J \cdot A}{3 \cdot C_1} \quad (\text{Ec. 7})$$

en la que  $J$  es el flujo del fármaco,  $A$  el área del parche y  $C_1$  el aclaramiento plasmático del fármaco, es posible calcular la concentración en estado de equilibrio estacionario que se obtendría si se aplicara un parche sobre la piel del organismo humano, en este caso de  $16 \text{ cm}^2$ , conteniendo una dosis de  $60 \text{ m}_g$  de nicardipino y  $15 \text{ m}_g$  de felodipino, en presencia y ausencia de penetrante. Según la ecuación 7, el efecto en las formulaciones de los penetrantes ensayados; azona, d-limoneno y miristato de isopropilo para alcanzar en el organismo humano concentraciones en estado de equilibrio estacionario de los fármacos estudiados, depende sólo del flujo que se alcance, ya que los demás factores de la ecuación 7 son constantes.

Para el nicardipino, cuando se utilizan penetrantes en las formulaciones ensayadas, sólo se alcanzan concentraciones en estado de equilibrio estacionario superiores a las que se obtienen sin la presencia de penetrante ( $13.90 \text{ m}_g/\text{m}_l$ ), cuando se emplea azona a la proporción del 1% con la que se alcanza un valor para  $C_{ss}$  de  $15.45 \text{ m}_g/\text{m}_l$  (TABLA VI.14). Este hecho es debido, a que para el nicardipino, la formulación que contiene un 1% de azona tiene mayor influencia sobre el flujo ( $J$ ) del fármaco, de acuerdo con la TABLA VI.6. Puede concluirse que, para el nicardipino, los distintos penetrantes ensayados en la presente Memoria, no permiten obtener un mayor rendimiento, respecto a la formulación sin penetrante, sobre la concentración del fármaco en estado de equilibrio estacionario. Por otra parte, desde un punto de vista terapéutico, en las condiciones consideradas

en el presente trabajo, la formulación de nicardipino sin penetrante alcanzará tras su aplicación sobre la piel del organismo humano, concentraciones terapéuticas (TABLA VI.14).

Respecto al felodipino, debe comentarse en primer lugar, que la formulación sin penetrante y, en las condiciones asumidas en la presente Memoria, no alcanza concentraciones en estado de equilibrio estacionario superiores a la concentración terapéutica del fármaco (TABLA VI.14).

La utilización en las formulaciones de felodipino de d-limoneno al 0.5% y al 1% así como, cuando se formula el fármaco con miristato de isopropilo al 5% y al 10%, no se alcanzan concentraciones en estado de equilibrio estacionario superiores a las concentraciones terapéuticas (TABLA VI.14). Estos resultados son consecuencia de que estas formulaciones son las que tienen menor influencia sobre el flujo ( $J$ ) del felodipino, tal como se expone en la TABLA VI.10.

Cuando se utiliza azona en las formulaciones, se obtienen concentraciones en estado de equilibrio estacionario del felodipino superiores a su concentración terapéutica (TABLA VI.14). Sin embargo, el aumento del porcentaje de penetrante en las formulaciones, no genera un aumento en los valores de  $C_{ss}$  (TABLA VI.14); como consecuencia de que los referidos incrementos no tienen prácticamente influencia en el flujo ( $J$ ) del felodipino (TABLA VI.10).

Los mayores valores de la concentración en estado de equilibrio estacionario del felodipino, muy superiores a su concentración terapéutica, se obtienen cuando en las formulaciones se utiliza d-limoneno al 5% y al 10% (TABLA VI.14). También en este caso, cuando se dobla la proporción de penetrante en las formulaciones, no se modifica el valor obtenido para  $C_{ss}$  (TABLA VI.14), debido, a que este incremento del penetrante no influye prácticamente en el flujo del fármaco ( $J$ ), de acuerdo con los valores consignados en la TABLA VI.10.

A la luz de los resultados obtenidos en este apartado de la Memoria, tanto la azona como el d-limoneno pueden considerarse como buenos penetrantes del felodipino, en lo que respecta a alcanzar concentraciones en estado de equilibrio estacionario superiores a la concentración terapéutica del fármaco. Como consecuencia de la acción que los distintos porcentajes de estos penetrantes ejercen sobre el flujo del felodipino, sería lógico utilizar en las formulaciones con este fármaco un 1% de azona o un 5% de d-limoneno.

Sin embargo, para el felodipino, es recomendable utilizar en formulaciones de formas de administración transdérmica (*SAT*), el d-limoneno al 5% como promotor de la penetración cutánea del fármaco. Esta conclusión, se debe a que con la referida concentración de penetrante se alcanza una concentración de felodipino en estado de equilibrio estacionario muy superior a la concentración terapéutica (TABLA VI.14). Estos resultados permiten disponer de un mayor margen de maniobra para diseñar el *SAT* de manera que sea la propia forma farmacéutica la que module la entrada del fármaco al organismo, que en definitiva, es el objetivo que se persigue con estas nuevas formas de dosificación.

**TABLA VI.14.-** Valores para el nicardipino y el felodipino de sus concentraciones terapéuticas ( $C_t$ ) y de las concentraciones en estado de equilibrio estacionario ( $C_{ss}$ ) con los penetrantes ensayados.

FARMACO	$C_t$ (ng/ml)	PENETRANTE	$C_{ss}$ (ng/ml)
Nicardipino	6-40	Azona 1%	15.45
		Azona 5%	10.68
		Azona 10%	9.20
		d-Limoneno 5%	11.26
		d-Limoneno 10%	12.69
		MIP 5%	12.69
		MIP 10%	9.84
		Sin penetrante	13.90
Felodipino	11-18	Azona 1%	14.03
		Azona 5%	14.03
		d-Limoneno 0.5%	5.07
		d-Limoneno 1%	9.06
		d-Limoneno 5%	35.19
		d-Limoneno 10%	35.95
		MIP 5%	5.93
		MIP 10%	5.72
		Sin penetrante	1.99

MIP miristato de isopropilo.

## 5 Bibliografía

- 1.- WILLIAMS , A.C., BARRY, B.W. "Terpenes and the lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement" *Pharmaceutical research*. 8, 17-24 (1991).
- 2.- SUGIBAYASHI, K., NAKAYAMA, S., SEKI, T., HOSOYA, K., MORIMOTO, Y. "Mechanism of skin penetration-enhancing effect by laurocoperam". *Journal of Pharmaceutical Science*, 81, 58-64 (1992).
- 3.- ITO, Y., OGISO, T., IWAKI, M. "Thermodynamic study on enhancement of percutaneous penetration of drugs by azone". *J. Pharmacobio-Dyn.* 11, 749-757 (1988).
- 4.- HOSOYA, K., SHUDO, N., SUGIBAYASHI, K., MORIMOTO, Y. "Effect of azone on the percutaneous absorption of 5-fluorouracil from gels in hairless rats". *Chem. Pharm. Bull.* 35, 726-733 (1987).
- 5.- STOUGHTON, R.B., McCLURE, W.O. "Azone: a new non-toxic enhancer of cutaneous penetration". *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 9, 725-744 (1983).
- 6.- SCHÜCKLER, F., LEE, G. "Relating the concentration-dependent action of azone and dodecyl-l-pyroglytamate on the structure of excised human stratum corneum to changes in drug diffusivity, partition coefficient and flux". *International Journal of Pharmaceutics.* 80, 81-89 (1992).
- 7.- GHANEM, A.H., MAHMOND, H., HIGUCHI, W.I., LIU, P., GOOD, W.A. "The effects of ethanol on the transport of lipophilic and polar permeants across hairless mouse skin: methods/validation of a novel approach". *International Journal of Pharmaceutics.* 78, 137-156 (1992).
- 8.- WILLIAMS, A.C., BARRY, B.W. "The enhancement index concept applied to terpene penetration enhancers from human skin and model lipophilic (oestradiol) and hydrophilic (5-fluorouracil) drugs". *International Journal of Pharmaceutics*, 74, 157-168 (1991).
- 9.- STOUGHTON, R.B. "Enhanced percutaneous penetration with 1-dodecylazacycloheptan-2-one". *Arch. Dermatol.* 118, 474-477 (1982).

- 10.- TAKAYAMA, K., NAGAI, T. "Simultaneous optimization for several characteristics concerning perentaneus absorption and skin damage of ketoptofen hydrogels containing d-limonene". *International Journal of Pharmaceutics*. 74, 115-126 (1991).
- 11.- FLYNN, G.L., STEWART, B. "Perentoneus drug penetration: choosing candidates for transdermal development". *Drug Dev. Res.* 13, 169-185 (1988).
- 12.- NAGAI, T., OKABE, H., OGURA, A., TAKAYAMA, K. "Effect of limonene and related compounds on the perentaneus absorption of indometacin". *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioactive Mater.* 16, 181-182 (1989).
- 13.- LIU, X.Y., TAKAYAMA, K., MACHIDA, Y., NAGAI, T. "Permeability of verapamil hydrochloride through keratinized buccal mucosa in comparison with abdominal skin and its enhencement with d-limonene and azone". *S.T.P. Pharma. Sciences*, 2, 247-252 (1992).

## **VII RESUMEN Y CONCLUSIONES**

El desarrollo de la presente Memoria se inicia con una introducción en la que se justifica el interés del diseño de sistemas de administración transdérmica (SAT) en general y, en particular para la serie de fármacos antagonistas del calcio seleccionados. En la referida introducción, se justifica la potencial utilización de estos fármacos formulados en forma de SAT como consecuencia de su elevada potencia farmacológica y sus indicaciones clínicas.

El CAPITULO II (págs. 5-6) hace referencia a los objetivos que se pretenden alcanzar con el trabajo experimental a realizar, los cuales se concretan en determinar las características de permeación de la serie de antagonistas del calcio sometidos a estudio con el fin de seleccionar él o los candidatos más apropiados para ser formulados en forma de SAT.

En el CAPITULO III (págs. 7 a 32) se procede a revisar las características químicas, farmacológicas, farmacocinéticas y clínicas de los fármacos estudiados, para finalizar este Capítulo revisando los antecedentes bibliográficos referentes a la absorción percutánea de los mismos.

A continuación, en el CAPITULO IV (págs. 33 a 76), se abordan todas las cuestiones referentes a la metodología utilizada en la presente Memoria, metodología orientada a la determinación de los principales parámetros fisicoquímicos que pueden condicionar la absorción percutánea de los fármacos ensayados por una parte y, por otra, se detalla la metodología utilizada para la determinación de los principales parámetros de permeación transdérmica tanto en ausencia como en presencia de penetrantes.

Seguidamente, en el CAPITULO V (págs. 77 a 170) se exponen los resultados obtenidos para las características fisicoquímicas estudiadas correspondientes a los fármacos ensayados así como de sus parámetros de permeación transdérmica. Los resultados obtenidos permitieron realizar un estudio comparativo de la potencial penetrabilidad de los compuestos ensayados con el fin de poder realizar una preselección de los mismos a partir de unos ensayos de predicción de suministro de niveles terapéuticos en función de los parámetros de permeación obtenidos. También se reseñan en este Capítulo los resultados obtenidos de las correlaciones ensayadas entre

parámetros fisicoquímicos y parámetros de permeación. Asimismo, en este Capítulo, se consignan los resultados obtenidos en los estudios de permeación del nicardipino y del felodipino -fármacos elegidos como óptimos para ser diseñados en forma de SAT- en presencia y ausencia de distintos penetrantes previamente seleccionados.

Finalmente, en la Discusión (págs. 171 a 203), se discuten de forma razonada todas aquellas cuestiones referentes tanto a las características fisicoquímicas estudiadas como a las propiedades de permeación de la serie de antagonistas del calcio ensayada, que permiten obtener información referente a la mejor utilización de estos fármacos formulados en forma de SAT para su potencial aplicación clínica.

Del trabajo realizado, las conclusiones más relevantes que se han obtenido son las siguientes:

- 1 Se ha puesto a punto y validado una metodología analítica por CLAE que ha permitido la determinación de las cinco dihidropiridinas estudiadas. La metodología resultó ser exacta (con valores de los errores relativos entre -7.92 y 5.61 %) y precisa (con valores de los coeficientes de variación entre 0.25 y 9.40 %).
- 2 Se determinaron los coeficientes de reparto octanol/agua así como los factores de capacidad cromatográfica  $K'_w$  extrapolados a 100% de fase acuosa como principales parámetros fisicoquímicos representativos de la lipofilia de estos compuestos. No se observaron diferencias muy marcadas en la lipofilia de los mismos, existiendo un orden de magnitud entre el menos lipófilo (nifedipino  $P=1387.2$ ) y el más lipófilo (nimodipino  $P=10760.1$ ) de aproximadamente 8 unidades.
- 3 Los parámetros de permeación transdérmica, constante de penetración ( $K_p$ ) y flujo ( $J$ ) determinados mediante la técnica propuesta por Okamoto, pusieron de manifiesto diferencias importantes en los perfiles de penetración transdérmica de los compuestos ensayados. El nifedipino fue el fármaco que presentó un menor valor de  $K_p$  ( $0.0017 \pm 0.0003 \text{ cm}\cdot\text{h}^{-1}$ ) y el nicardipino el que

presento un valor superior ( $0.0049 \pm 0.0015 \text{ cm.h}^{-1}$ ). Respecto al flujo, se puso de manifiesto que, nicardipino y felodipino fueron los fármacos que presentaron unos valores mas elevados ( $0.0876$  y  $0.0184 \text{ mg.h}^{-1}.\text{cm}^{-2}$ ) mientras que el nimodipino fue el que presento un menor valor ( $0.0067 \text{ mg.h}^{-1}.\text{cm}^{-2}$ ).

- 4 Se determinaron asimismo los períodos de latencia y se observó que en general los valores obtenidos eran excesivamente elevados para un diseño en forma de SAT . Dichos valores oscilaron entre 9.8 y 33 horas excepto para el nifedipino que presentó un período de latencia de 5.1 horas.
- 5 Se aplicaron los modelos bilineal, parabólico e hiperbólico con el fin de predecir los valores de  $K_p$  en función de la lipofilia de estos compuestos. Tras la aplicación del criterio de MAICE el modelo que mejor predijo el valor de  $K_p$  fue el modelo parabólico ( $r=0.984$ ). El mismo modelo ha demostrado se útil para otras series de compuestos.
- 6 En función de los parámetros farmacocinéticos de las dihidropiridinas en el hombre, y de los de penetración transdérmica obtenidos en la rata se procedió a predecir los niveles plasmáticos que se obtendrían en el hombre asumiendo que la penetrabilidad transdérmica en la rata es tres veces superior a la humana y considerando una superficie máxima de absorción de  $16 \text{ cm}^2$ . De los resultados obtenidos se preseleccionaron únicamente nicardipino y felodipino como posibles candidatos a ser diseñados en forma de SAT.
- 7 Tanto felodipino como nicardipino presentaron en los estudios de penetración transdérmica efectuados unos valores elevados del período de latencia, 9.8 y 16 horas respectivamente. Este hecho nos llevo a la consideración de la utilización de diversos penetrantes para mejorar los perfiles de penetración transdérmica de los dos principios activos preseleccionados. En base a la clasificación realizada por Hansch se seleccionaron tres penetrantes correspondientes a las tres areas de clasificación propuestas por dichos autores. Se seleccionaron el d-limoneno, la azona y el miristato de isopropilo.

- 8 Los tres penetrantes ensayados mejoraron sensiblemente el período de latencia de nicardipino y felodipino. Cuando se compararon los flujos como parámetro representativo de la velocidad de penetración transdérmica se observó que solamente se mejoró dicho parámetro en el caso del felodipino y no en el caso del nicardipino.
- 9 La acción de los tres penetrantes en el caso del nicardipino se concreta en un incremento en el coeficiente de difusión que justifica la disminución del período de latencia, una disminución del coeficiente de actividad motivada por un descenso en la solubilidad del fármaco inducida por la presencia del penetrante. El incremento del coeficiente de difusión se contrarresta por la disminución del coeficiente de actividad por lo que el resultado neto en términos de flujo es nulo. Este hecho explica el motivo de la no mejora en la velocidad de penetración transdérmica en el caso de este fármaco.
- 10 La mejora en la velocidad de penetración transdérmica observada para el felodipino con los tres penetrantes ensayados presenta diferencias cuantitativamente importantes en función del tipo de penetrante ensayado. Si bien los tres penetrantes incrementaron el coeficiente de difusión, el incremento inducido por el d-limoneno sobre este parámetro fue mucho más marcado (produjo un aumento relativo de 3.68 a 8.6 veces dicho parámetro). Los tres penetrantes incrementaron la solubilidad de dicho fármaco siendo otro factor positivo a considerar. El resultado neto fue positivo para los tres penetrantes ensayados siendo mas ostensible en el caso del d-limoneno.
- 11 Se comprobó la influencia de las distintas concentraciones de d-limoneno sobre los parámetros de permeación  $K_p$  y  $J$  obteniéndose para el primero una correlación parabólica ( $r=0.9999$ ) y para el segundo una correlación asintótica de tipo hiperbólico ( $r=0.822$ ). La consecuencia práctica de este hecho radica en la necesidad de estudiar el efecto de los penetrantes a distintas concentraciones con el fin de obtener un efecto óptimo.

- 12** Se repitieron los estudios de predicción de niveles plasmáticos para ambos fármacos con el uso de penetrantes observándose que en este caso, para el nicardipino se mejoraron muy discretamente los niveles plasmáticos predichos mediante el uso de la azona al 1% mientras que para el felodipino la mejora fue espectacular en todos los casos obteniéndose con d-limoneno un incremento 15 veces superior en los niveles plasmáticos en comparación con los obtenidos sin penetrante.
  
- 13** En caso de realizarse el diseño de un SAT para felodipino se recomendaría la utilización del terpeno, d-limoneno, como penetrante, debido a la sustancial mejora que proporciona de las características de permeación de dicho fármaco, a su origen natural y a su inocuidad.
  
- 14** Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que en el intento de selección de candidatos, para ser administrados por vía percutánea en forma de SAT, a partir de series de fármacos, es obligado abordarlo tanto con los principios activos solos como en presencia de penetrantes.