

DESARROLLO Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE TRES SISTEMAS LÍQUIDOS DE LIBERACIÓN DE TETRACAÍNA PARA ANESTESIA PERCUTÁNEA

Elvira Escribano Ferrer¹, Ana C. Calpena Campmany¹; M^a José García Celma¹; Paqui Izquierdo Torres²

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Av. Joan XXIII, s/n. 08028 Barcelona. ²Departamento de Tecnología de Tensioactivos. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales de Barcelona (CSIC). Jordi Girona, 18-26. 08034 Barcelona.

Introducción

Las microemulsiones son soluciones coloidales, transparentes y termodinámicamente estables en las que pueden coexistir cantidades equivalentes de líquidos no miscibles debido a la presencia de uno o más compuestos tensioactivos con un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) adecuado. Su estructura puede ser de tipo aceite en agua, O/A, o agua en aceite, A/O, con un tamaño de gota que oscila entre 10 y 100 nm, y también pueden presentar estructuras bicontinuas en las que la fase acuosa y oleosa presentan continuidad macroscópica (1).

Las emulsiones y las microemulsiones, al poseer en su estructura microambientes polares y apolares, presentan unas propiedades de gran interés para la vehiculación de fármacos. Entre estas propiedades cabe destacar la elevada capacidad de solubilización de fármacos poco solubles, especialmente en las microemulsiones, el incremento de la estabilidad de moléculas fácilmente oxidables o hidrolizables, la optimización de la biodisponibilidad, y la posibilidad de actuar como sistemas de liberación controlada (2-4). La presencia de tensioactivos en la composición de emulsiones y microemulsiones puede producir modificaciones en la actividad de los fármacos (5) así como aumentar la permeabilidad de las membranas o alterar su integridad (6)

La tetracaína es un anestésico local muy poco soluble en agua, que se hidroliza fácilmente dando lugar al ácido p-aminobenzoico. Se administra en forma de cremas, soluciones no

acuosas y en pomadas de vaselina en una concentración del 0.5%.

El objetivo del presente trabajo de investigación ha sido el estudio de la permeación cutánea *in vitro* en piel humana de tetracaína solubilizada en dos emulsiones y una microemulsión formuladas con excipientes biocompatibles adecuados para la administración sobre la piel. La disponibilidad de nuevas formulaciones transdérmicas con un rápido inicio de la acción, un efecto analgésico duradero y una buena tolerancia, puede resultar de gran interés para reducir el dolor y el estrés que conllevan diferentes procedimientos clínicos rutinarios, especialmente en neonatología (7-9), en pediatría (10) y en otros ámbitos, como la dermatología donde de forma habitual se realizan pequeñas intervenciones quirúrgicas a nivel ambulatorio.

Material y Métodos

Formulaciones

Se han elaborado dos emulsiones y una microemulsión de tipo O/A pertenecientes a sistemas del tipo agua / tensioactivo no iónico etoxilado (C_n(EO)_m) / hidrocarburo alifático, con una concentración de tetracaína del 0.5% en peso. La emulsión 1, de 1 µm de radio de gota, con una concentración de tensioactivo del 3% y una relación O/A igual a 50/50, se preparó por agitación mecánica a 9500 rpm y caracterizada por microscopía óptica. La emulsión 2, de 32 nm de radio, perteneciente al mismo sistema pero

338 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

con 8% de tensioactivo y 72% de agua, fue preparada por cambio rápido de temperatura desde 85°C hasta 25°C y caracterizada por dispersión dinámica de la luz láser (DLS). La microemulsión, de 8 nm de radio, perteneciente a un sistema similar, con 19.3% de tensioactivo y 72% de agua se preparó por agitación manual y caracterizada también por DLS. La estabilidad de todas las formulaciones, bajo las condiciones y tiempo del ensayo, así como de la tetracaina solubilizada, fue determinada previamente a los ensayos de permeación cutánea. Como formulación de referencia, se ha empleado una solución saturada de tetracaina en tampón fosfatos pH 6.

Método analítico

El contenido de tetracaina en las muestras de trabajo se analizó por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) con detección UV a 322 nm. Para ello se utilizó una columna Kromasil C18 (4 µm, 15 x 0.46 mm) y como fase móvil una mezcla de acetonitrilo/metanol (50:50): tampón fosfato pH 7 (75:25), a un flujo de 1 ml/min. La metodología analítica fue validada inter e intradía en el margen de concentraciones de 125 - 0.49 µg/ml, resultando ser lineal ($p > 0.05$), precisa y exacta con un coeficiente de variación porcentual (CV%) inferior a 7.16%, y con un error relativo (%E) comprendido entre -2.49 y 8.14%.

Permeación transdérmica

El estudio de permeación se llevó a cabo utilizando células de difusión tipo Franz (2.54 cm²) y piel humana de la zona abdominal de 0.4 mm de grosor como membrana de permeación. Se utilizó piel procedente de un único donante y se tomaron muestras del compartimiento receptor durante 10 h. Como solución receptora se utilizó una solución amortiguadora de fosfatos a pH 6. Previo al ensayo de permeación se comprobó la integridad de la piel mediante la técnica de la pérdida de agua transepidérmica (TEWL). Finalizada la experiencia, la membrana fue lavada y pesada. La cantidad de tetracaina retenida en la piel, fue extraída por sonicación con metanol, previa determinación de la

capacidad de recuperación de la técnica extractiva utilizada.

Tratamiento de los datos experimentales

Los datos experimentales, cantidades permeadas acumuladas en función del tiempo, se ajustaron de acuerdo con un modelo de dosis finitas, a la ecuación 1 (11) mediante el programa LAPLACE y utilizando los parámetros P_1 y P_2 según Okamoto y col. (12):

$$Q = \frac{P_1 \cdot A \cdot X_0}{s[V_1 \cdot (s/P_2)^{1/2} \cdot \sinh(s/P_2)^{1/2} + P_1 \cdot A \cdot \cosh(s/P_2)^{1/2}]} \quad \text{(Ecuación 1)}$$

donde:

$P_1 = K \cdot L$ (Ecuación 2) y $P_2 = D/L^2$ (Ecuación 3), en la que K es el coeficiente de reparto del fármaco piel/vehículo, L el espesor de la membrana y D es el coeficiente de difusión del fármaco a través de la piel.

A, X_0 , V_1 y s, son el área de la membrana, la cantidad de fármaco a tiempo 0 en el compartimento donador, volumen del compartimento donador y operador complejo de Laplace, respectivamente.

El coeficiente de permeabilidad (K_p) se obtuvo de la ecuación siguiente: $K_p = P_1 \cdot P_2$ (Ecuación 4)

Para determinar el flujo máximo (J_{max}), se ajustó la ecuación 5 a las cantidades de fármaco permeado (Q) en función del tiempo: $J = Q \cdot s$ (Ecuación 5), donde s es el operador complejo de Laplace y la transformación de la ecuación 6:

$$J = \frac{dQ}{dt} \quad \text{(Ecuación 6)}$$

Estudio estadístico

Se ha aplicado un test de comparación de medias (ANOVA) entre los valores medios de las relaciones de las áreas cromatográficas y su correspondiente concentración, para comprobar la linealidad del método analítico utilizado.

La comparación entre los parámetros de permeación obtenidos a partir de las distintas formulaciones ensayadas (flujo máximo, coeficiente de permeabilidad, parámetros P_1 y P_2 , y cantidad de fármaco retenido en la piel al finalizar la experiencia), se realizó de acuerdo

con Williams y col.(13), mediante la aplicación de un test no paramétrico (Kruskall Wallis Z).

Resultados y discusión

Los parámetros de permeación obtenidos para todas las formulaciones ensayadas se exponen en la Tabla 1. En la figura 1 se representa la relación entre el flujo máximo y la cantidad de tetracaína retenida en la piel al finalizar la experiencia.

Tabla 1. Medianas y rangos de flujo máximo (J_{max}), parámetros P_1 y P_2 , coeficiente de permeabilidad (K_p) y cantidad de tetracaína retenida por la piel (Q_{ret}) para las formulaciones ensayadas.

	J_{max} (mg/h)	$P_1 \cdot 10^2$ (cm)	$P_2 \cdot 10^2$ (1/h)	$K_p \cdot 10^3$ (cm/h)
E1	28.77* (17.97 - 34.35)	5.95 (4.06 - 9.65)	5.48 (3.55 - 9.21)	3.68* (2.11 - 3.85)
E2	21.60* (12.75 - 31.10)	5.24 (3.41 - 9.23)	3.91 (3.09 - 6.60)	2.74* (1.35 - 3.61)
ME	12.83 (9.43 - 14.91)	3.12 (1.98 - 6.08)	4.99 (2.36 - 6.41)	1.33 (1.04 - 1.56)
S	65.17 (52.73 - 77.61)	10.19 (6.69 - 13.69)	14.09 (8.23 - 19.93)	12.30 (11.30 - 13.33)

* Diferencias significativas con la microemulsión $p < 0.05$

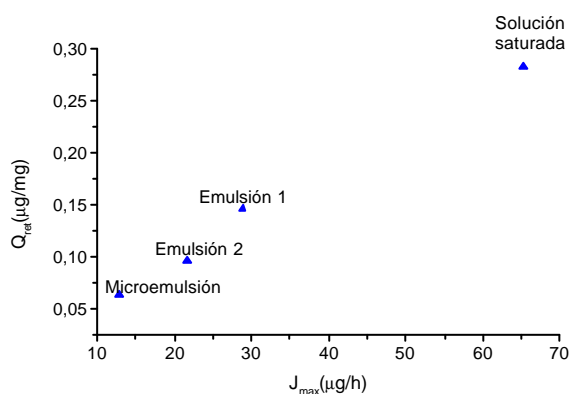


Fig. 1 Relación entre el flujo máximo (J_{max}) y la cantidad de tetracaína retenida en la piel (Q_{ret})

La permeación transdérmica de la tetracaína a partir de la solución saturada ha resultado ser superior respecto al resto de formulaciones. Este hecho es indicativo de que los excipientes empleados en las emulsiones 1 y 2, y en la

microemulsión no favorecen el paso de la tetracaína a través de la piel.

Comparando las dos emulsiones, y teniendo en cuenta que ambas pertenecen al mismo sistema de liberación pueden hacerse las siguientes consideraciones:

- Aunque no se han hallado diferencias significativas ($p > 0.05$) en los parámetros de permeación (J_{max} , K_p , P_1 y P_2) (Tabla 1), los mayores valores corresponden a la emulsión 1. Estos resultados están de acuerdo con Anselem (14) que describe una mayor acción farmacológica *in vivo* en emulsiones de tamaño de gota submicroscópico.
- El mayor valor de la K_p de la emulsión 1 respecto al de la emulsión 2 podría atribuirse a un mayor valor del parámetro P_2 relacionado con el coeficiente de difusión (D) de la tetracaína.
- El menor perfil de permeación de la emulsión 2 respecto a la emulsión 1 (figura 1), podría ser debido a su mayor tamaño de gota, el cual reduciría el flujo de difusión del principio activo influido por una menor área superficial de fase dispersa (15).
- Aunque la composición a nivel cuantitativo de las emulsiones 1 y 2 no es exactamente la misma, la mayor cantidad de tetracaína retenida en la piel de la emulsión 1 respecto a la emulsión 2 podría ser debida a su menor tamaño de gota que seguiría una ruta de penetración distinta.

La comparación de los parámetros obtenidos considerando las tres formulaciones indica que, a pesar de que la microemulsión presenta un tamaño de gota inferior al de las emulsiones 1 y 2, sus parámetros de permeación han resultado ser inferiores a éstas ($p < 0.05$). Ello podría ser debido, en este caso, a la influencia de los excipientes utilizados dado que la microemulsión pertenece a un sistema de liberación distinto (16). De acuerdo con los resultados obtenidos, los excipientes utilizados en las formulaciones ensayadas no presentan actividad promotora

340 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

sobre la permeación transdérmica de la tetracaina.

Bibliografía

1. Shinoda K, Lindman D: "Organized surfactant systems: Microemulsions". *Langmuir*, 3, 135 (1987).
2. Lawrence HB. "Emulsions and microemulsions" en "Pharmaceutical dosage forms. Disperse systems". Vol 2. Lieberman HA, Rieger MM, Gilbert SB, eds. Marcel Dekker, New York (1989).
3. Davies SS, Hadgraft J, Palin KJ. "Medical and pharmaceutical applications of emulsions" en "Encyclopedia of emulsion technology". Vol 2. Becher P, ed. Marcel Dekker, New York (1985)
4. Garcia MJ: "Solubilization of drugs in microemulsions" en "Industrial applications of microemulsions" Solans C, Kunieda H, eds. Marcel Dekker, New York (1997).
5. Attwood D, Florence AT. "Surfactant systems. Their chemistry, pharmacy and biology". Chapman and Hall. London (1983).
6. Walters KA, Bialik W, Brain KR. "The effects of surfactants on penetration across the skin". *Int J Cosmetic Sci.*, 260 (1993)
7. Jain A, Rutter N (2000). *Arch Disease Childhood* SI:F42 (2000).
8. Jain A, Rutter N . *Arch Disease Childhood* SI:F207 (2000).
9. Jain A, Rutter N . *Arch Disease Childhood* SI:F211 (2000).
10. Wilder RT. *Pediatric Clinics North America*, 47, 545 (2000).
11. Williams A:C;, Cornwell P.A. Barry B.W. *Int. J. Pharm.*, 86, 69 (1992).
12. Hashida, M., Okamoto, H., Sezaki, H. (1988). *J. Pharmacobiol. Drugs*, 11, 639 (1988).
13. Okamoto, H., Kamatsu, H., Hashida, M., Sezaki, H. *Int.J.Pharm.*, 30, 34 (1986).
14. Amselem, S., Friedman, D. In *Submicron emulsions in drug targeting and delivery*, (Benita, S., ed.), Harwood academic publishers, 9, 153(1998).
15. Ktistis, G., Niopas I. *J. Pharm. Pharmacol.*, 50, 413 (1998)
16. Loth, H. *Int. J. Pharm.*, 68, 1 (1991).

Autor de contacto:

*Elvira Escribano Ferrer
elvira@farmacia.far.ub.es
Facultad de Farmacia
Av. Joan XXIII, s/n
08028 Barcelona
Telf.:93 402 45 60
Fax:93 402 45 63*