

Sistemas Matriciales

Edda COSTA ^{1*}, Aquiles ARANCIBIA¹ & Jean-Marc AÏACHE ²

¹ Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

² Departamento de Biofarmacia. Facultad de Farmacia. Universidad de Clermont Ferrand, Francia.

RESUMEN. En este trabajo se hace una revisión de los sistemas matriciales en lo que concierne a su formulación, concepción, diseño y sus propiedades biofarmacéuticas. Estos sistemas se caracterizan por retardar y regular la liberación del principio activo, mediante un proceso que sigue, en general, las leyes de difusión. Se mencionan tres tipos de matrices: inertes, hidrofílicas y lipídicas y se hace énfasis en los excipientes glicéridos saturados poliglicólicos, Gelucire®, utilizados en la elaboración de matrices lipídicas, los cuales modulan la liberación y mejoran la biodisponibilidad de los fármacos que contienen.

SUMMARY. "Matrix systems". In this work the evolution of the matrix systems referred to formulation, conception, design, and their biopharmaceutical properties is reviewed. These systems allow the delay and regulate the liberation of the drugs they contain, according to processes which in general follow the diffusion laws. Inert, hydrophilic and lipidic matrices are mentioned, emphasizing the use of saturated polyglycolysed glycerides which modulate the release and improve the bioavailability of the active principles.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha incrementado el desarrollo de sistemas o dispositivos que permiten que un fármaco pueda liberarse de manera controlada o bien orientarse a una región determinada del cuerpo. Es así como la investigación en preparados farmacéuticos de liberación modificada ha experimentado un desarrollo importante en los últimos años, avalada tanto por el conocimiento farmacocinético de los medicamentos como por los grandes avances en la obtención de polímeros biocompatibles ¹⁻⁷.

En la actualidad existen en el mercado numerosos productos formulados para administración oral y parenteral que entregan el principio activo en forma controlada. Sin embargo, muchos de estos preparados emplean tecnologías muy sofisticadas en su elaboración, difícilmente alcanzables en países en desarrollo y con mer-

cados reducidos, lo que hace que éstos sean dependientes de la compra de tecnología. Por este motivo, es interesante el desarrollo de este tipo de formulaciones en forma de matrices, que llevan el fármaco uniformemente disperso y desde donde se libera principalmente por mecanismos difusionales y cuya gran ventaja es que el producto farmacéutico se puede obtener mediante tecnologías convencionales ^{1-5,7-12}.

El progreso alcanzado en la manufactura de los sistemas matriciales deriva directamente de los avances en la ciencia de los polímeros y del conocimiento cada vez más exacto de los factores que influyen en el comportamiento de estos sistemas matriciales.

Los sistemas matriciales pueden ser considerados actualmente como una de las formas más fáciles y menos costosas de controlar la liberación de los principios activos. Estos sistemas re-

PALABRAS CLAVE: Glicéridos saturados poliglicólicos, Matrices hidrofílicas y Matrices lipídicas, Matrices inertes,

KEY WORDS: Hydrophilic matrices, Inert matrices and lipidic matrix, Saturated polyglycolysed glycerides.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: ecosta@uchile.cl

tardan y regulan la liberación del principio activo, mediante un proceso que sigue las leyes de difusión ^{1-5,7-9}.

Según sus características, se pueden distinguir tres tipos de matrices:

1. Matrices inertes, plásticas o insolubles.
2. Matrices hidrofílicas.
3. Matrices lipídicas.

La sofisticación de los excipientes que pueden usarse y la cantidad de trabajo llevada a cabo para su selección durante el desarrollo permiten apreciar cómo han evolucionado los sistemas primitivos en lo que concierne a su concepción, diseño y propiedades biofarmacéuticas.

Desde el primer trabajo realizado para incorporar un fármaco en un polímero, las formas y apariencias de los productos farmacéuticos elaborados con ellos han experimentado variaciones notables. Su tamaño puede ir de micrones (por ejemplo las microcápsulas) a milímetros (minitables) y tamaños más grandes como tabletas y cápsulas. Su forma ha evolucionado desde una esfera clásica de gránulos y tabletas a una serie de formas geométricas que modulan la liberación de fármaco de acuerdo al área superficial de contacto con el medio. El conocimiento de los parámetros de la formulación y el escalamiento industrial de las diferentes tecnologías usadas permiten producir diversas formas de dosificación como tabletas, cápsulas y mini-gránulos y también la asociación y combinación de éstos en una sola forma farmacéutica. En esta misma área, la comprensión de los mecanismos de liberación de fármaco desde sistemas matriciales, y el empleo de la correlación de los datos *in vitro* e *in vivo*, permite diseñar nuevas formas farmacéuticas usando asociaciones de diferentes tipos de matrices ⁹.

El propósito de este trabajo es revisar la evolución de los sistemas matriciales en lo que concierne a su formulación, concepción, diseño y sus propiedades biofarmacéuticas.

MATRICES INERTES ^{1-5,7-9,12-14}

Las **matrices inertes**, denominadas comúnmente **matrices plásticas o insolubles**, forman una red sólida porosa compuesta de sustancias no tóxicas, no digeribles e insolubles en el tracto gastrointestinal. Ellas se eliminan en forma intacta junto con las heces. El número de excipientes que pueden utilizarse para obtener este tipo de matrices es amplio gracias al desarrollo de la química moderna. Estos deben cumplir varias exigencias:

-La formación de una red porosa no desintegrable después de la compresión.

-Insolubilidad en los fluidos del tracto gastrointestinal.

-Compatibilidad con fármacos y otros componentes.

-No tóxicos.

Entre los polímeros que se utilizan en la elaboración de matrices inertes se incluyen: cloruro de polivinilo, polietileno, copolímeros de acrilato.

En el proceso de elaboración de la matriz, el fármaco se granula con los diferentes excipientes de acuerdo a los procesos clásicos (granulación seca o húmeda) o se disuelve en la sustancia plástica y luego se comprime.

El **proceso de liberación** de fármaco ocurre por difusión a través de los poros de la matriz y depende de la concentración del fármaco, su solubilidad, los aditivos y la naturaleza de los líquidos de la granulación. Otros factores que podrían modificar la liberación del principio activo son:

-El tamaño de partícula del excipiente.

-La forma y área superficial del sistema matricial.

-La presión de compresión.

Los líquidos penetran la red porosa del sistema por capilaridad. El fármaco se disuelve y luego difunde a través de los canalículos llenos de líquido.

La velocidad de liberación de un fármaco desde una matriz inerte suele ajustarse, a la ecuación de Higuchi ^{1,15}:

$$Q = [(D \epsilon / \tau) (2A - \epsilon Cs) Cs t]^{1/2}$$

donde:

Q: cantidad de fármaco liberado de la matriz por unidad de superficie expuesta a tiempo *t*.

D: coeficiente de difusión del fármaco en el medio de disolución.

A: cantidad de fármaco por unidad de volumen de matriz (concentración en la matriz).

Cs: solubilidad del principio activo en el medio de disolución

ϵ : porosidad de la matriz

τ : tortuosidad de la matriz

Si se hacen las siguientes suposiciones: $A \gg Cs$; $C = 0$ en el medio de disolución durante todo el tiempo (condición *sink*); *D* permanece constante; no hay interacción entre el fármaco y la matriz, la ecuación anterior se expresa de la siguiente manera:

$$Q = k \sqrt{t}$$

donde k es una constante de proporcionalidad.

Esta ecuación establece que la liberación del principio activo es una función de la raíz cuadrada del tiempo y entre los factores que la influyen se incluyen la solubilidad del fármaco, la relación fármaco/excipiente, la porosidad, tortuosidad y superficie de la matriz inerte¹⁵.

Aunque la cantidad de fármaco liberado como una función de la raíz cuadrada del tiempo es a menudo lineal, se presentan algunas variaciones, por ejemplo, con los polímeros muy hidrófobos la transferencia de líquido es muy lenta lo que causa un tiempo de latencia (*lag time*).

Este tipo de matrices es de gran utilidad ya que la influencia de las condiciones del medio (pH, concentración iónica, actividad enzimática o motilidad gastrointestinal) son mínimas o nulas, con excepción de aquellos fármacos cuya solubilidad depende fuertemente de las variaciones del pH. Por esta razón, este tipo de matriz se usa esencialmente para las moléculas relativamente solubles (Figura 1).

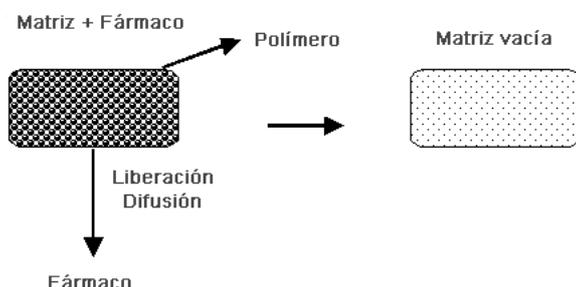


Figura 1. Representación esquemática del proceso de difusión de un fármaco desde una matriz inerte.

MATRICES HIDROFILICAS^{1-5,7-9,12,13,16}

Estas son obtenidas por la compresión de una mezcla que contiene un principio activo relativamente soluble y un polímero no digerible que actúa como un agente gelificante. Este polímero se hidrata e hincha cuando entra en contacto con los líquidos digestivos. De esta manera hay formación de una capa gelificada, cuyo espesor aumentará con el tiempo. El fármaco tiene que difundir progresivamente a través de esta capa gelificada.

La liberación del principio activo puede describirse en cuatro pasos no consecutivos:

-La penetración del líquido del medio de disolución o del tracto gastro-intestinal en el com-

primido junto con la disolución simultánea de una cantidad pequeña de fármaco que se encuentra en la superficie externa de la forma farmacéutica.

-Hinchamiento del polímero hidrófilo por adsorción de agua y formación de una barrera gelificada.

-Penetración de los líquidos circundantes en la profundidad de los comprimidos por difusión a través de la capa de gel y disolución del fármaco.

-Difusión del fármaco disuelto a través de la barrera gelificada.

Este tipo de matriz presenta las siguientes ventajas:

1. La liberación del fármaco es poco o no influenciada por las variaciones de las condiciones físico-químicas y fisiológicas en el tracto gastro-intestinal
2. El proceso de manufactura es a menudo simple y barato y numerosos excipientes muy conocidos pueden usarse por su buena tolerancia:

-Derivados de celulosa como la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

-Polisacáridos de tipo no celulósicos como galactomananos a partir de goma guar, goma de algarroba, ácido alginico y derivados del ácido carragénico.

-Polímeros acrílicos como carbomer.

En las matrices hidrofílicas, es posible modificar el ambiente de disolución de fármaco para controlar la velocidad de liberación creando un "micro-pH" en la matriz con el uso de sustancias apropiadas para estos fines (Figura 2).

MATRICES LIPIDICAS^{1-5,7-9,12,13,17}

Las matrices lipídicas son a menudo llamadas "matrices insolubles" o "matrices ceras" a causa de su apariencia, o "matrices erosionables". El principio activo se suspende en un excipiente lipídico, en el que queda aprisionado o "incrustado".

Los excipientes están constituidos por glicéridos, principalmente saturados (mono-, di- y triglicéridos), ácidos y alcoholes grasos, ésteres de ácidos grasos y de alcoholes de bajo peso molecular y por ceras, constituidas principalmente por ésteres de alcoholes y de ácidos grasos superiores.

Estos excipientes, generalmente de origen natural, son bien tolerados fisiológicamente. Ellos difieren en su punto de fusión, consistencia, hidrofilia, sensibilidad a la actividad de la lipasa y a variaciones del pH^{1,9,17}.

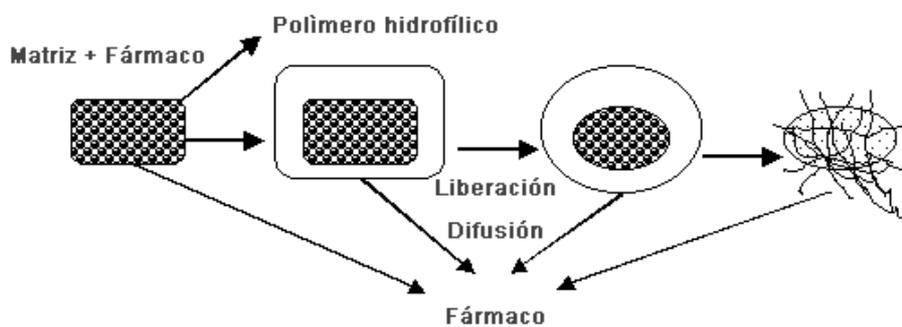


Figura 2. Representación esquemática del proceso de liberación desde una matriz hidrofílica. El sistema comienza con una etapa de hinchamiento, forma una capa de gel que luego se reduce y se erosiona. Finalmente el sistema se disuelve totalmente.

Los fármacos incorporados son generalmente lipofílicos, que se disuelven o quedan parcialmente en suspensión ^{1,9,17}.

La preparación de estas matrices lipídicas se lleva a cabo en dos etapas: la primera es la obtención de un polvo o granulado; la segunda es la compresión. Para obtener un polvo o un granulado se pueden usar diferentes métodos ^{1,9,17}:

Inclusión por fusión y congelamiento. El fármaco y los excipientes se mezclan en el lípido fundido (la temperatura usada es cercana al punto de fusión del lípido) y luego se congelan.

Disolución y evaporación del disolvente. El principio activo en polvo se incorpora en un disolvente orgánico y luego se adiciona a la sustancia lipídica fundida.

Congelamiento por atomización (*Spray congealing*). El principio activo en polvo suspendido en pequeñas partículas en el lípido fundido se solidifica mediante atomización en aire frío.

Secado por atomización (*Spray drying*). El principio activo micronizado se disuelve en un solvente orgánico que contiene el excipiente disuelto y se seca a una temperatura determinada.

La liberación del principio activo se produce de acuerdo a las características del excipiente lipídico: si el lípido no es digerible, la matriz no se destruye durante el tránsito gastrointestinal, en cambio un lípido digerible se destruye por erosión lenta debido a la hidrólisis de los componentes grasos. La liberación de fármaco desde este tipo de matriz es controlada por la hidrólisis grasa pero también por un mecanismo de difusión. Según el tipo de excipiente lipídico y a su sensibilidad a la lipólisis, uno u otro de estos dos mecanismos predomina ^{2,17}.

En el caso de un lípido no digerible, la liberación del principio activo puede describirse de acuerdo a la ecuación de Higuchi propuesta para las matrices inertes ¹⁵. La liberación de fármaco por el mecanismo de erosión obedece otras leyes. La fracción liberada es proporcional a la

cantidad de excipiente hidrolizado, generalmente se observa liberación de acuerdo a cinética de primer orden ^{2,17}. Sin embargo, si la geometría de la matriz está diseñada para que un área de la superficie de erosión se mantenga constante en el tiempo y si la hidrólisis del lípido es una función lineal del área superficial, puede observarse cinéticas de liberación de orden cero ¹². En la práctica, la erosión no es un fenómeno constante sino que ocurre en forma gradual, y la difusión de fármaco que sigue a esta erosión no es despreciable ^{12,18}. Así, debido a la pequeña área superficial en contacto con los fluidos biológicos y la intensidad relativa de la hidrólisis enzimática, la liberación dependería esencialmente de la difusión ¹⁹.

Además, como para los otros tipos de matrices, los comprimidos contienen una cierta cantidad de fármaco localizada en la superficie del comprimido y que puede liberarse como dosis inicial ². Sin embargo, es muy difícil de cuantificar la cantidad de fármaco liberado de esta manera, y a veces es necesario tener otra capa de fármaco libre que actúe como dosis inicial. Numerosos factores pueden influir en la liberación de principio activo a partir de este tipo de matriz. Un factor muy importante es la variabilidad individual del paciente, porque no todos poseen la misma actividad de la lipasa ²⁰.

Las matrices lipídicas son de gran interés ya que son muy bien toleradas por el tracto gastrointestinal y además estos excipientes pueden ejercer una acción protectora frente a fármacos que producen irritación de la mucosa gastrointestinal ^{2,9}.

La producción industrial de las matrices lipídicas puede presentar dificultades, sin embargo, un interesante y promisorio nuevo desarrollo en este campo es el uso de materiales grasos fundidos introducidos al estado líquido en cápsulas de gelatina que luego solidifican cuando se enfrían. La consistencia puede ir de mezclas suaves

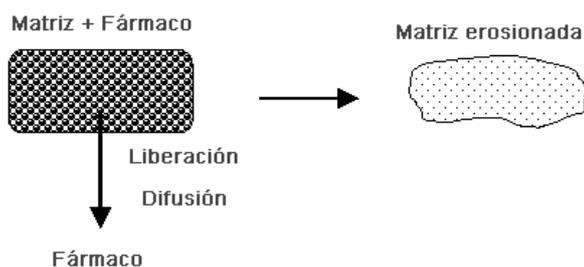


Figura 3. Representación esquemática del proceso de erosión desde matriz lipídica.

ves a una matriz gelificada. La liberación del fármaco depende de la viscosidad de la mezcla lipídica ^{9,21-25}.

El proceso de manufactura de este tipo de cápsulas es muy similar a la elaboración de los supositorios; la mezcla del fármaco y excipientes se dispersa en el excipiente lipídico fundido y se introduce en las cápsulas de gelatina dura (como en un molde). Después del enfriamiento, la mezcla solidifica. El método de extrusión puede usarse si la mezcla es sólida o semisólida ^{9,21-28}.

La ventaja de este tipo de cápsulas lipídicas deriva de la gran versatilidad de las características físico-químicas de los excipientes usados: punto de fusión, BHL, viscosidad de la mezcla. La liberación del fármaco puede ser adaptada mezclando diferentes tipos de excipientes con diferente BHL y por modificación de la consistencia de la mezcla incorporando otros aditivos (PEG, sílica gel en polvo) ^{9,21-28}.

Los excipientes actualmente más utilizados en la elaboración de matrices lipídicas son los glicéridos saturados poliglicólicos (Gelucire®) que corresponden a una serie de excipientes grasos constituidos por mezclas de glicéridos y ésteres polioxietilénicos por lo tanto dentro del grupo se dispone de una serie de excipientes con diferentes propiedades ^{23,29-33}.

Cada Gelucire® se caracteriza por dos números, el primero se refiere al punto de fusión (aproximado) de la base y el segundo al valor del BHL (Balance Hidrófilo-Lipófilo), por lo tanto, es posible tener una idea razonable de las propiedades de cada base a partir de la nomenclatura. El método más común de síntesis implica una reacción de alcoholisis, mediante la cual se hacen reaccionar los aceites vegetales hidrogenados de coco, palma y núcleo de palma, con polietilenglicol (PEG) de peso molecular entre 300 y 1500 a 230 °C y en presencia de nitrógeno ^{29,33}. Los triglicéridos se rompen en sus constituyentes ácidos grasos, que luego se esterifican

con los grupos alcoholes terminales de las moléculas de polietilenglicol. Como alternativa, puede usarse esterificación directa, con lo cual los ácidos grasos de aceite de coco (ácido palmítico o ácido esteárico) son esterificados con glicerol y polietilenglicol. Como estas reacciones no alcanzan a completarse, las bases consistirán en una mezcla de glicéridos y ésteres polioxietilénicos de ácidos grasos ^{29,33}.

La composición química de las diferentes bases puede ser controlada modificando las materias primas y las condiciones de manufactura. En general, mientras mayor sea la proporción de ésteres polioxietilénicos en el producto final, más hidrofílica será la base. Asimismo, a mayor longitud de la cadena del polietilenglicol y ácido graso, más alto es el punto de fusión del excipiente ^{29,33}. Los valores de BHL de glicéridos y ésteres polioxietilénicos de ácidos grasos se resumen en la Tabla 1.

Triglicéridos	1-2
Diglicéridos	2-3
Monoglicéridos	3-4
Diésteres polioxietilénicos de ácidos grasos	6-15
Monoésteres polioxietilénicos de ácidos grasos	10-15

Tabla 1. Valores de BHL de glicéridos y ésteres polioxietilénicos de ácidos grasos ³³.

La elección del Gelucire® apropiado puede hacerse en base a los valores de BHL y al punto de fusión. Estos dos parámetros varían dentro de rangos amplios lo que permite seleccionar los más apropiados en función de las propiedades de liberación y otras características que deseen para el producto. En la Figura 4 se presentan los diferentes tipos de Gelucire® de acuerdo a su punto de fusión y BHL ^{29,33}.

Los Gelucire® han atraído considerable interés como excipientes farmacéuticos por una serie de razones. El amplio rango de excipientes dentro del grupo les otorga una serie de propiedades y a su vez, se puede elegir el Gelucire® o mezcla de ellos de acuerdo a las características de la formulación, ya sea en términos del método de manufactura o de la velocidad de liberación del principio activo ^{29,33}.

El uso más común de estos excipientes ha sido para el llenado líquido de cápsulas de gelatina duras ¹⁸. El proceso de manufactura es muy similar al de los supositorios; la mezcla de fár-

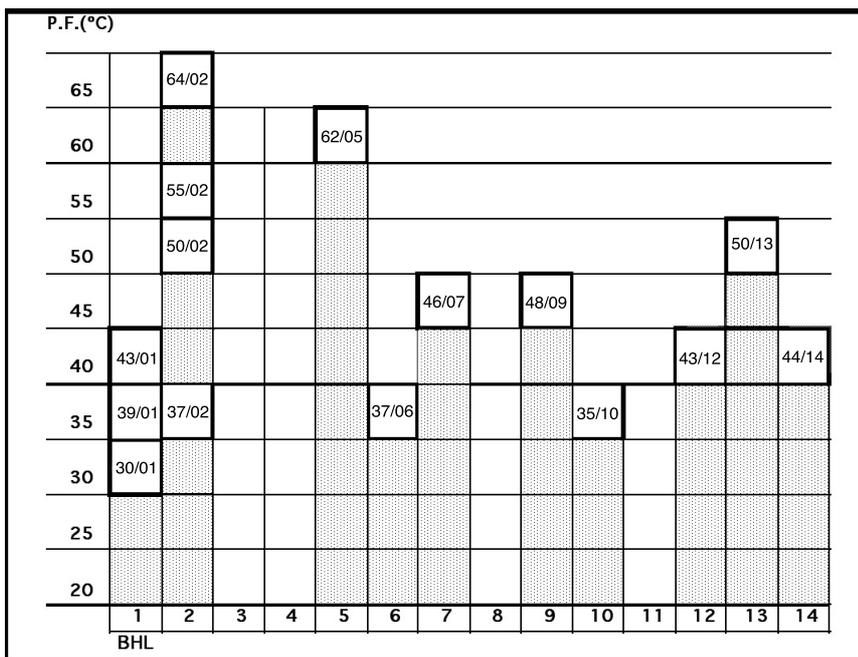


Figura 4. Esquema representativo de los diferentes Gelucire® en función del punto de fusión y BHL.

maco y aditivos se dispersa en el excipiente lipídico fundido y posteriormente se llenan las cápsulas de gelatina dura. Después del enfriamiento, la mezcla se solidifica ¹⁸.

Existen varios estudios que describen el uso de Gelucire® como bases para el llenado líquido de cápsulas de gelatina dura utilizando fármacos líquidos, delicuescentes, inestables o higroscópicos los cuales son difíciles de formular mediante técnicas convencionales. Asimismo, por sus propiedades de fusión y anfifilia pueden regular la liberación de principios activos poco solubles ^{18,21,22,24,25,34-41}.

Estos excipientes pueden ser usados para la elaboración de comprimidos obtenidos mediante procesos de granulación por fusión o solvente, recubrimiento retardante para gránulos o *pe-*

llets que contienen principios activos ^{27,42-48}. En todas las formas farmacéuticas, el proceso de manufactura implica la fusión del excipiente a la forma líquida y un posterior proceso de solidificación. Además de estas formas farmacéuticas, se han realizado estudios sobre el uso de estas bases en sistemas de liberación transdérmicos y geles rectales para la liberación de insulina ^{49,50}.

Los avances tecnológicos han producido una nueva generación de principios activos más potentes y eficaces, los cuales tienden a ser poco solubles en agua, lo que lleva a problemas en la formulación y en su biodisponibilidad. Las formulaciones a base de Gelucire® permiten mejorar la biodisponibilidad de las formas farmacéuticas que las contienen ^{24,32,34,35,37,40,41,51}.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ballard, B.E. (1978) "An Overview of Prolonged Action Drug Dosage Forms", en *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems* (J.R. Robinson, ed.), Marcel Dekker, Inc. U.S.A. págs. 1-51
- Aiache, J. M., J.Ph. Devissaguet & A.M. Guyot-Hermann (1983) "Biofarmacia" Ed. El Manual Moderno, México. D.F., págs.276-319
- Domenech, J. & E. Escribano (1998) "Preparados orales de cesión modificada: cinética" en *Biofarmacia y Farmacocinética* (Domenech, J., Martínez, J. & J.M. Plá ed.), Síntesis S.A. España. págs. 317-47.
- Gupta, P.K. & J.R. Robinson (1992) "Oral Controlled-Release Delivery" en "Treatise on Controlled Drug Delivery" (A. Kydonieus, ed.), Marcel Dekker, Inc. U.S.A. págs. 225-313
- Lordi, N.G. (1986) "Sustained Release Dosage Forms" en "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy" (L. Lachman, H.A. Lieberman & J.L. Kanig, eds), Lea & Febiger U.S.A. págs. 430-456.
- Ganem, A. & D. Quintanar (1999) *Pharm. Technol.* **3**: 44-7.
- Longer, M.A. & J.R. Robinson (1987) "Sistemas de Liberación Sostenida de Drogas" en *Reimington Farmacia 17^ª edición* (A.R. Gennaro,

- ed.), Médica Panamericana S.A. México. págs. 2240-64.
8. De Haan, P. & C.F. Lerk (1984) *Pharm. Weekbl. Sci.* **6**: 57-67.
 9. Aiache, J. M. (1987) *Le Moniteur Internat.* **4**: 31-39.
 10. Chien, Y.W. (1983) *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **9**: 1291-330.
 11. Higuchi, W.I., N.F.H. Ho & H.P. Merkle (1983) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **9**: 1227-39.
 12. Vial Bernasconi, A-C., E. Doelker & P. Buri (1988) *S.T.P. Pharma* **4**: 397-409.
 13. Ségot-Chicq, S., E. Teillaud. & N.A. Peppas (1985) *S.T.P. Pharma* **1**: 25-36.
 14. Salomon, J.-L. & E. Doelker (1980) *Pharm. Acta Helv.* **55**: 174-82.
 15. Higuchi, T. (1963) *J. Pharm. Sci.* **52**: 1145-9.
 16. Buri, P. & E. Doelker (1980) *Pharm. Acta Helv.* **55**: 189-97.
 17. Doelker, E. & P. Buri (1981) *Pharm. Acta Helv.* **56**: 111-8.
 18. Vial-Bernasconi, A.C., E. Doelker & P. Buri (1985) *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* **12**: 272-3.
 19. Vergnaud, J. (1993) "Controlled drug release of oral dosage forms", Ed. Ellis Horwood Limited, England, págs. 313-28
 20. Dandelot Keller, M.P., P. Buri & E. Charollais (1992) *Pharm. Acta Helv.* **67**: 34-42.
 21. Baykara, T. & N. Yüksel (1991) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **17**: 1215-27.
 22. Bodmeier, R., O. Paeratakul, H. Chen & W. Zhang (1990) *Drug Ind. Pharm.* **16**: 1505-19.
 23. Crison, J. & E. Lipka (1997) *Bull. Tech. Gattefossé* **90**: 71-4
 24. Doelker, C., Doelker, E., Buri, P. & L. Waginaire (1986) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **12**: 1553-65.
 25. Howard, J.R. & P.L. Gould (1987) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **13**: 1031-45.
 26. Prapaitrakul, W., O.L. Sprockel & P.A. Shivanand (1991) *J. Pharm. Pharmacol.* **43**: 377-81.
 27. Edimo, A., P. Leterme, J. Denis, M. Traisnel & A.T. Gayot (1993) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **19**(7): 827-42.
 28. Hülsmann, S., T. Backensfeld, S. Keitel & R. Bodmeier (2000) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **49**: 237-42.
 29. Waginaire, L. & B. Glas (1981) *Bull. Tech. Gattefossé.* **74**: 7-12.
 30. Duffield, A. (1985) *Bull. Tech. Gattefossé* **78**: 87-8.
 31. Dupinay, P. & M. Bauer (1985) *Bull. Tech. Gattefossé* **79**: 27-30.
 32. Buri, P., A.C. Vial-Bernasconi & E. Doelker (1988) *Bull. Tech. Gattefossé.* **81**: 7-15.
 33. Ratsimbazafy, V. & C. Brossard (1991) *S.T. P. Pharma Pratiques* **1**: 335-49.
 34. Dordunoo, S.K., J.L. Ford & M.H. Rubistein (1991) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **17**: 1685-713.
 35. Kinget, R. & H. De Greef (1994) *Int. J. Pharm.* **110**: 65-73.
 36. Mathis, C. & J. Heimendinger (1989) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **15**: 2407-17.
 37. Nadkarni, S. & P.A. Laskar (1991) *Pharm. Res.* **8**: S-135
 38. Reed, C.M., Rogerson, A. & I.G. Jolliffe (1990) *J. Pharm. Pharmacol.* **42**: 90P
 39. Ortigosa, C., Gaudy, D., Jacob, M. & A. Puech (1991) *Pharm. Acta Helv.* **66**: 311-5.
 40. Smith, A., J.F. Lampard, K.M. Carruthers & P. Regan (1990) *Int. J. Pharm.* **59**: 115-9.
 41. Vial-Bernasconi, A-C., P. Buri, E. Doelker, E. Beyssac, G. Duchaix & J-M. Aiache (1995) *Pharm. Acta Helv.* **70**: 307-13.
 42. Magron, P., Rollet, M., Taverdet, J.L. & J.M. Vergnaud (1987) *Int. J. Pharm.* **38**: 91-7
 43. Laghoueg, N., Paulet, J., Taverdet, J.L. & J.M. Vergnaud (1989) *Int. J. Pharm.* **50**: 133-9
 44. Bidah, D. & J.M. Vergnaud (1990) *Int. J. Pharm.* **58**: 215-20.
 45. Bidah, D., E.M. Ouriemchi & J.M. Vergnaud (1992) *Int. J. Pharm.* **80**: 145-9.
 46. Vila Jato, J.L., C. Remunan & R. Martinez (1990) *S.T.P. Pharma* **6**: 88-92.
 47. Saraiya, D. & S. Bolton (1990) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **16**(13): 1963-1969
 48. Malamataris, S., A. Panagopoulou & P. Hatzipantou (1991) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **17**: 1765-77.
 49. Ritschel, W.A., G.B. Ritschel & G. Sathyan (1988) *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **62**: 103-12.
 50. Green, J.T, B.K. Evans, J. Rhodes, C. Ranshaw, C. Feyerabend. & M.A.H. Russell (1999) *Br. J. Clin. Pharmacol.* **48**: 485-93.
 51. Serajuddin, A.T.M. (1997) *Bull. Tech. Gattefossé* **90**: 43-50.