

Monitorización de Fármacos en Saliva: Ventajas e Inconvenientes

PIETRO FAGIOLINO

Cátedra de Farmacodinamia
Facultad de Química, Casilla de Correo 1157
11800 Montevideo, Uruguay

RESUMEN. La monitorización de fármacos en saliva es una técnica no invasiva, de fácil obtención, económica y con notorias ventajas éticas. Sin embargo, su relación con la concentración plasmática no es constante en el tiempo y depende del modo de administración del fármaco (dosis única o dosis múltiple), de la velocidad de absorción y del perfil de liberación *in vivo* desde la forma farmacéutica. Para inferir correctamente la concentración plasmática de droga a partir de niveles salivales, éstos deben ser obtenidos en la fase farmacocinética de eliminación, descartando absolutamente una posible absorción de sustancia. En consecuencia, deben evitarse realizar estudios de bioequivalencia, utilizando solamente datos salivales.

SUMMARY. "Saliva Drug Monitoring: Advantages and Inconveniences". Saliva drug monitoring is an easy and non invasive method, with economical and evident ethical advantages. Nevertheless, the saliva/plasma concentration ratios is variable with the time and they depend on the drug administration way (single dose or multiple dose), absorption rate, and *in vivo* release profile of the pharmaceutical forms. To infer correctly the plasma concentration of drug from salival levels, these ones must be obtained within elimination pharmacokinetical phase, discarding all possible absorption of substance. Consequently, bioequivalence studies using only salival data must be avoided.

INTRODUCCION

La monitorización de moléculas bioactivas en los fluidos biológicos surge de la necesidad de controlar los efectos que puedan ejercer en los sistemas vivos.

Lo ideal sería conocer la concentración de fármaco en los sitios de acción, pero el acceso a los mismos, en la mayoría de los casos, es prácticamente imposible.

Siendo la sangre el principal fluido encargado de la distribución de las sustancias

hacia todos los tejidos del organismo, es que ha merecido la preferencia como material biológico analizable. Por otra parte, para un importante número de sustancias activas se ha demostrado que, al menos en determinados períodos de tiempo, sus concentraciones plasmáticas están directamente relacionadas con la actividad farmacológica.

Sin embargo, otro fluido biológico de rápido equilibrio con la sangre podría, en

PALABRAS CLAVE: Relación Saliva/Plasma; Farmacocinética.

KEY WORDS: Saliva/Plasma Ratio; Pharmacokinetics.

teoría, ser útil para la monitorización. La saliva ha ocupado un lugar de privilegio desde hace bastante tiempo para fármacos que hacia allí difunden, por varias razones prácticas: fácil acceso para el muestreo, éticamente preferible y con ventajas económicas.

En la tabla 1 se presentan algunas propiedades fisicoquímicas y concentración de electrolitos en saliva y plasma respectivamente. ¹

	Saliva	Plasma
Densidad (g/cm ³)	1,002-1,012	1,024-1,028
pH	5,8-7,1	7,4
Sustancia seca (g/l)	3-8	80
Sodio (mEq/l)	5,2-24,4	138-148
Potasio (mEq/l)	14-41	3,4-5,2
Calcio (mEq/l)	0,69-2,46	4,6-5,2
Cloruro (mEq/l)	15,1-31,5	101-111
Bicarbonato (mEq/l)	10-50	21,3-28,5
Magnesio (mEq/l)	0,065-0,38	1,3-2,1
Fosfato total (mg/l)	120-288	89-149
Proteína total (g/l)	1,4-6,4	62,1-81,7

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas y concentraciones de solutos en saliva y plasma. ¹

La diferente composición de ambos fluidos se explica en el proceso de formación de la saliva, que tiene lugar a partir de los acinos. En dicha zona se secretan las enzimas salivales y una solución de iones que prácticamente no difiere en composición de la plasmática. ²

En su fluir a través de los conductos salivales se produce una serie de intercambios con las células que los revisten, reabsorbiéndose sodio y cloruro fundamentalmente, con excreción de potasio y bicarbonato.

La regulación del pH y de la concentración de bicarbonato está gobernada por la presencia de la enzima anhidrasa carbónica en las células adyacentes a los conductos. La aldosterona regula el intercambio activo de sodio y potasio.

La composición de la saliva está muy sujeta a la velocidad de flujo salival ³, como se muestra en la figura 1.

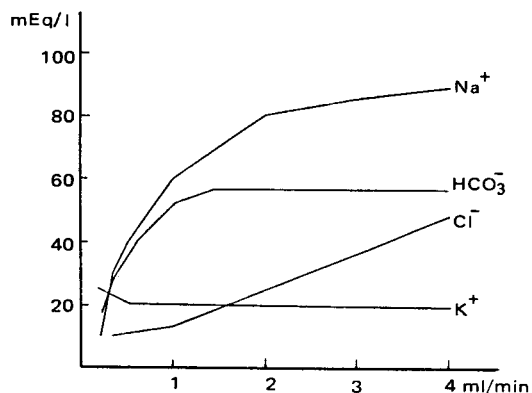


Fig. 1. Concentración de electrolitos en saliva de parótida en función de la velocidad de secreción salival. ³

DIFUSION HACIA SALIVA DE FARMACOS

La fracción no ligada de fármaco presente en el plasma es la única capaz de difundir a la saliva ⁴ (Tabla 2).

Droga	Plasma libre/total	Cociente saliva/plasma
Aminopirina	0,85	0,80
Antipirina	0,90	0,83-1,00
Carbamacepina	0,24-0,33	0,37
Digoxina	0,77	0,78
Fenacetina	0,60-0,70	0,60
Fenitoína	0,10-0,14	0,09-0,11
Primidona	0,78-0,97	0,97-1,08
Teofilina	0,41	0,52
Fenobarbital	0,40-0,68	0,30-0,38
Acido Salicílico	0,20-0,55	0,03-0,04
Tolbutamida	0,09	0,012

Tabla 2. Relación de concentraciones de droga en plasma (libre/total) y cociente de niveles en saliva/plasma. ⁴

No sólo la relación droga libre/droga total plasmática es utilizada para prever la relación de concentraciones saliva/plasma (S/P). El pH en plasma y saliva ⁵ y los aclaramientos salivales ^{6,7} también han sido tenidos en cuenta en la predicción de la relación S/P.

Salvo algunas excepciones ^{8,9} en que la difusión hacia saliva puede operar por transporte activo o mecanismo saturable, la mayoría de las drogas parecen difundir en forma pasiva.

Aunque ciertos autores han señalado cierta influencia del flujo salival sobre la concentración de fármaco en saliva ^{6,7}, otros trabajos no dan significación a esta relación ^{9,10}.

RELACION DE CONCENTRACIONES DE FARMACO EN SALIVA Y PLASMA (S/P)

Varios trabajos científicos han mostrado una buena correlación S/P y en particular sobre parámetros farmacocinéticos determinados a partir de ambos conjuntos de muestras ¹⁰⁻¹⁶. Ello ha conducido a que se practicara estudios farmacocinéticos y de bioequivalencia con datos salivales exclusivamente ^{17,18}.

Sin embargo la buena correlación hallada es sólo aparente, y cuando se examinan datos salivales y plasmáticos a lo largo del tiempo tras la administración de dosis múltiples, dosis únicas extravasculares, intravenosas por bolus o perfusión, la conclusión es muy diferente ^{8,19-25}.

Una observación sumamente interesante es que la relación S/P varía apreciablemente durante la fase de absorción, llegándose a obtener concentraciones en saliva muy superiores a las concentraciones plasmáticas, aun cuando las condiciones de pH no lo anticipen. Luego esas mismas relaciones S/P disminuyen hasta estabilizarse, durante la fase de eliminación, en un valor acorde con la relación de droga libre/droga total en plasma.

Se ha sugerido como causa la adsorción de partículas de sustancia en la mucosa bucal, durante los primeros minutos, que hacen elevar ficticiamente la relación S/P.

Sin embargo, otros estudios han evitado

cuidadosamente esa posibilidad, sin poderse evitar que el mismo fenómeno se observara. Un ejemplo contundente lo muestra la figura 2, en la cual se grafica la relación S/P en el tiempo, luego de administrar teofilina en forma de supositorio ²².

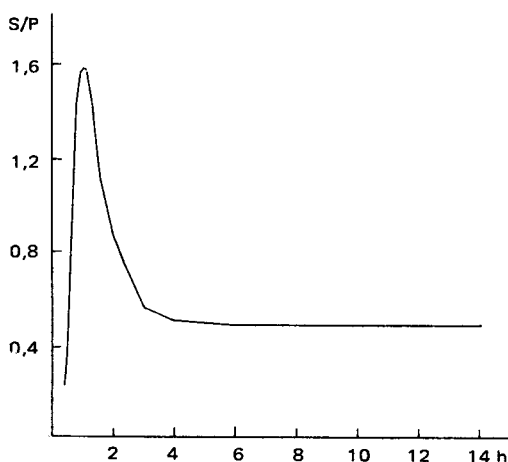


Figura 2. Relación saliva/plasma (S/P) en función del tiempo para teofilina administrada en supositorios. ²²

La figura 3 muestra los niveles medios (10 sujetos) de paracetamol en saliva y plasma luego de administrar una dosis oral de 3 tabletas de 500 mg. ⁸

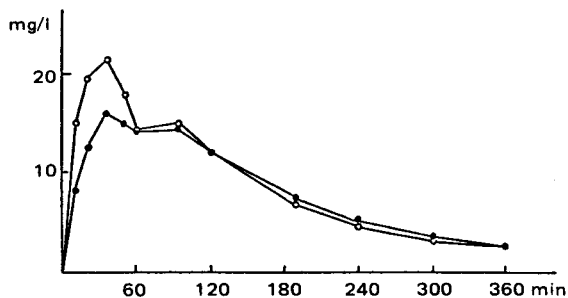


Figura 3. Concentraciones medias de paracetamol en saliva (○) y plasma (●) luego de la ingestión oral de 1,5 g de sustancia. ⁸

EXPLICACIONES DE LA VARIABLE RELACION S/P

Un modelo anatómico-fisiológico desarrollado por Posti ²⁶ permite explicar cla-

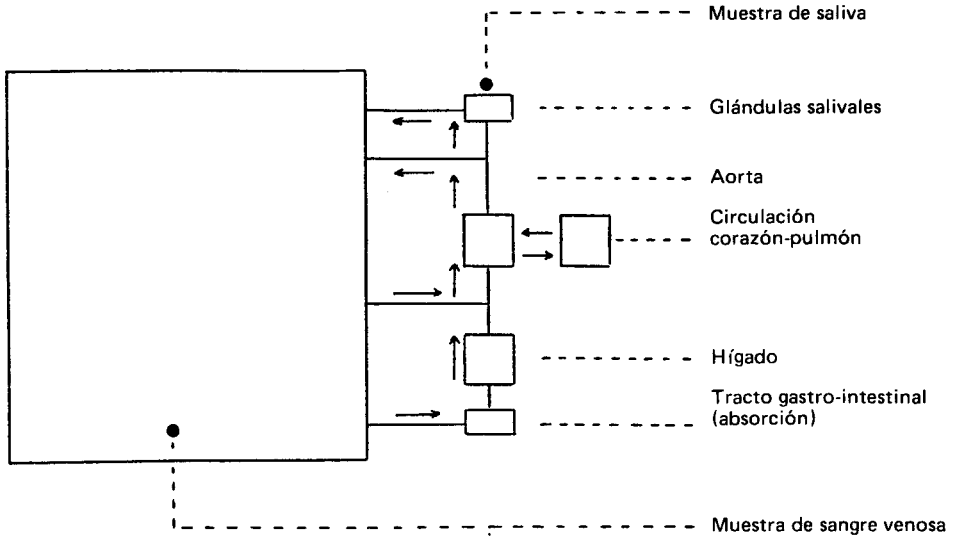


Figura 4. Esquema de absorción gastrointestinal y distribución en el organismo ²⁶. Ver explicación en el texto.

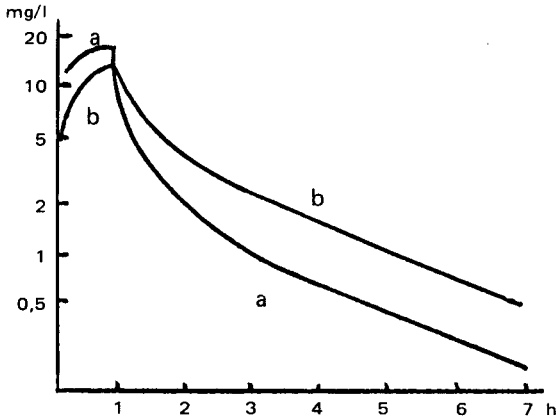


Figura 5. Niveles de procainamida en plasma de arteria (a) y vena (b), luego de la infusión de droga a 244 mg/h durante 54 minutos, en conejo. ²⁷

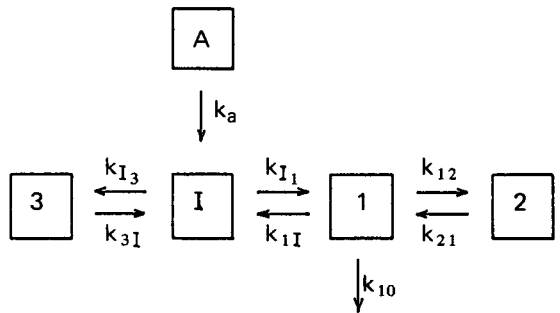


Figura 6. Modelo farmacocinético de absorción y distribución en saliva y resto del organismo. ²³ Ver explicación en el texto.

ramente que durante la fase de absorción del principio activo la relación S/P se incrementa hasta un máximo, tras lo cual decrece y se estabiliza en la fase de eliminación (figura 4).

La sangre que extraemos habitualmente es de la vena antecubital, es decir post-capilarización y eventual distribución de sustancia. Administrado por vía oral, el principio activo ingresa al torrente circulatorio vía porta con directa inserción, luego, en vena

cava inferior, corazón, pulmón, corazón y finalmente vía aorta al resto del organismo. Entre los tejidos que irriga están las glándulas salivales, a las que llega sangre que siguió muy poca capilarización (salvo pulmón) y distribución de fármaco, es decir una mayor concentración respecto de la sangre venosa.

Una experiencia que confirma plenamente el modelo es la practicada con procainamida luego de inyectada en conejo por infusión en la vena yugular ²⁷. La figura 5 muestra los niveles de droga en arteria carótida y en la vena femoral.

Recientemente se ha propuesto un modelo farmacocinético compartimental que también explica la variable relación S/P²³ (figura 6).

A es el sitio de absorción, I el compartimiento vascular desde la zona de absorción hasta la zona capilar que irriga las glándulas salivales, 1 el resto de la vasculatura y tejidos bien perfundidos, 2 el compartimiento

tisular o periférico al cual difunde la sustancia y 3 el compartimiento salival.

Las constantes de velocidad (*k*) son de primer orden.

Resolviendo matemáticamente dicho modelo, las ecuaciones que describen la evolución en el tiempo de las concentraciones de droga en saliva y plasma, contienen 5 términos exponenciales:

$$C_1 = P_a^o e^{-k_a t} + P_1^o e^{-L_1 t} + P_2^o e^{-L_2 t} + P_3^o e^{-L_3 t} + P_4^o e^{-L_4 t} \quad (1)$$

$$C_3 = S_a e^{-k_a t} + S_1 e^{-L_1 t} + S_2 e^{-L_2 t} + S_3 e^{-L_3 t} + S_4 e^{-L_4 t} \quad (2)$$

Siendo *C*₁ y *C*₃ las concentraciones en plasma y saliva, respectivamente.

$$L_1 L_2 L_3 L_4 = k_{I1} k_{3I} k_{21} k_{10} \quad (3)$$

Con *L*₁ mayor que *L*₂, *L*₂ mayor que *L*₃ y *L*₃ mayor que *L*₄.

Diversas consideraciones cinéticas en el balance de masas del sistema nos permiten asumir determinadas simplificaciones, tales como:

- a) el término exponencial en *L*₁ tendrá muy poca significación en el tiempo, decayendo a cero en forma casi instantánea,
- b) muy poco afecta el comportamiento 3 (salival) a la ganancia o pérdida de sus-

tancia del compartimiento I, por lo cual puede ser quitado del sistema cuando se observa desde I,

- c) por el contrario, analizado desde el compartimiento 3 el intercambio mencionado en b) sí es importante.

Esto trae como consecuencia que las ecuaciones de *C*₁ y *C*₃ sean simplificadas en las siguientes:

$$C_1 = P_a e^{-k_a t} + P_3 e^{-L_3 t} + P_4 e^{-L_4 t} \quad (4)$$

$$C_3 = S_a e^{-k_a t} + S_2 e^{-L_2 t} + S_3 e^{-L_3 t} + S_4 e^{-L_4 t} \quad (5)$$

Es claro que haciendo el cociente *C*₃/*C*₁, el mismo es variable en el tiempo y al alcanzar la fase *L*₄ (eliminación), se estabiliza en un valor constante:

$$\frac{C_3}{C_1} = \frac{k_{3I} (J_2 - L_4) (J_1 - L_4) F_1}{k_{1I} (k_{21} - L_4) (L_2 - L_4)} \quad (6)$$

Con:

$$J_1 = \frac{k_{1I} + k_{12} + k_{21} + k_{10} + \sqrt{(k_{1I} + k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4k_{21}(k_{1I} + k_{10})}}{2} \quad (7)$$

$$J_2 = \frac{k_{1I} + k_{12} + k_{21} + k_{10} - \sqrt{(k_{1I} + k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4k_{21}(k_{1I} + k_{10})}}{2} \quad (8)$$

.

F_1 : fracción de droga libre en plasma.

Las constantes $L3$ y $L4$ serían las expresiones α y β que aparecen en los desarrollos clásicos de farmacocinética.

Las constantes k_{I1} y k_{1I} se estiman como:

$$k_{I1} = f/V_I \quad (9)$$

$$k_{1I} = f/V_1 \quad (10)$$

siendo f el flujo sanguíneo y V_I y V_1 los volúmenes de los compartimientos I y 1 , respectivamente.

k_{I1} puede asumirse que sea la microconstante de velocidad más grande del sistema.

Aceptando como correcto que $L3$ $L4 = k_{21}$ k_{10} y asumiendo que $L1$ es muy próximo a k_{I1} , $L2$ puede asimilarse a k_{3I} .

Teniendo claro que esto no es absolutamente cierto, nos permite al menos realizar simulaciones con parámetros bibliográficos de k_{12} , k_{21} , k_{10} , $L3$, $L4$, V_1 , con valores arbitrarios de $L2$ y con diferentes valores posibles de k_a .

En la tabla 3 se presentan simulaciones efectuadas para la teofilina con parámetros de disposición extraídos de la bibliografía

28 29. Se supuso un valor de $L2$ igual a 20 h^{-1} .

Se observa que a medida que se incrementa la constante de velocidad de absorción (k_a), el período de variación S/P disminuye. Se alcanza, pues, rápidamente, un valor constante.

La simulación de relaciones S/P luego de dosis múltiple muestra además que la amplitud de la oscilación S/P (S/P máx. - S/P fase eliminación) decrece a medida que se progresa en el número de dosis (tabla 4).

Esto explica la variable relación S/P que algunos autores encuentran luego de dosis única extravascular, y la no tan importante variabilidad luego de dosis múltiples.

El ascenso rápido de la relación S/P que se aprecia en la tabla 3 puede enlentecerse si se disminuye el valor de $L2$, por ejemplo a 8 h^{-1} (tabla 5).

El mismo efecto es posible obtenerlo reduciendo el volumen V_1 . Esta situación es perfectamente realista para los primeros minutos, ya que el volumen del compartimiento 1 no alcanza su valor final (20 litros para droga libre), sino hasta transcurrir un deter-

$L4 = 0,16 \text{ h}^{-1}$	$k_{10} = 0,46 \text{ h}^{-1}$
$L3 = 6,4 \text{ h}^{-1}$	$V_1 = 20 \text{ L}$ (para droga libre)
$k_{12} = 3,9 \text{ h}^{-1}$	% unión a proteínas: 50%
$k_{21} = 2,2 \text{ h}^{-1}$	$k_{1I} = 9 \text{ h}^{-1}$

hora	$k_a \text{ (h}^{-1}\text{)}$				
	0	0,1	0,5	1	5
0,008	1,083	1,083	1,083	1,083	1,083
0,08	0,911	0,911	0,910	0,909	0,900
0,24	0,764	0,763	0,759	0,754	0,718
0,48	0,686	0,684	0,677	0,667	0,603
0,96	0,622	0,619	0,606	0,591	0,520
1,44	0,593	0,589	0,573	0,555	0,506
1,92	0,577	0,572	0,554	0,535	0,505
2,40	0,566	0,561	0,542	0,524	0,504
3,12	0,556	0,550	0,530	0,515	0,504
4,08	0,547	0,541	0,521	0,509	0,504
4,96	0,542	0,536	0,516	0,506	0,504

Tabla 3. Relación saliva/plasma simulada para teofilina luego de dosis única ($L2 = 20 \text{ h}^{-1}$). 28, 29

Intervalo de administración: 4h				
	k_a (h^{-1})			
	0,5	1	5	10
Dosis N° 2				
0,008 h	0,578	0,608	0,747	0,783
S/P máx.	0,587	0,617	—	—
T máx.	0,16 h	0,16 h	0,08 h	0,08 h
4 h	0,516	0,508	0,504	0,504
Dosis N° 4				
0,08 h	0,545	0,568	0,689	0,733
S/P máx.	0,553	0,578	—	—
T máx.	0,24 h	0,16 h	0,08 h	0,08 h
4 h	0,513	0,507	0,504	0,504
Estado estacionario				
0,08 h	0,539	0,560	0,673	0,718
S/P máx.	0,547	0,569	—	—
T máx.	0,24 h	0,16 h	0,08 h	0,08 h
4 h	0,513	0,507	0,504	0,504

Tabla 4. Relación saliva/plasma simulada para *teofilina* luego de dosis múltiple ($L2 = 20 h^{-1}$), con iguales parámetros de la tabla 3. ^{28 29}

hora	k_a (h^{-1})			
	0	0,5	1	5
0,1	0,537	0,538	0,538	0,544
0,3	0,612	0,615	0,618	0,640
0,5	0,620	0,623	0,625	0,636
1	0,592	0,588	0,583	0,542
1,5	0,572	0,563	0,563	0,514
2	0,561	0,548	0,536	0,511
2,5	0,554	0,539	0,527	0,511
3	0,548	0,532	0,521	0,511
3,5	0,545	0,528	0,517	0,511
4	0,542	0,524	0,515	0,511
4,5	0,540	0,522	0,513	0,511
5	0,538	0,519	0,512	0,511

Tabla 5. Relación saliva/plasma simulada para *teofilina* luego de dosis única ($L2 = 8 h^{-1}$), con iguales parámetros de la tabla 3. ^{28 29}

minado lapso de tiempo. Lamentablemente esta simulación es difícil de practicar, ya que en ese período de tiempo desconocemos los valores de las constantes cinéticas del sistema.

El valor máximo de la relación S/P puede

ser aún más elevado, teniendo en cuenta que la concentración de droga libre en la sangre que irriga las glándulas salivales varía en forma importante durante la fase de absorción. ³⁰

La sustancia que va ingresando a la cir-

culación sanguínea se enfrenta a una cantidad de proteínas plasmáticas muy inferior a la total, produciéndose una concentración de droga libre alta y variable en este período.

La técnica de simulación efectuada para teofilina también puede practicarse para otros fármacos, tal como se muestra en la tabla 6 con el paracetamol. Lógicamente, el

valor de $L2$ no tiene por qué ser el mismo para todas las sustancias, sino que dependerá de sus propiedades fisicoquímicas.

En resumen, ambos modelos, tanto el anatómico-fisiológico como el farmacocinético, fundamentan la variable relación S/P de las sustancias que difunden a la saliva y que un cuidadoso protocolo experimental debería ponerlo en evidencia.

$L4 = 0,13 \text{ h}^{-1}$	$k_{10} = 0,38 \text{ h}^{-1}$
$L3 = 0,59 \text{ h}^{-1}$	$V_1 = 51 \text{ L}$ (para droga libre)
$L2 = 20 \text{ h}^{-1}$ (arbitrario)	% unión a proteínas: 10%
$k_{12} = 0,14 \text{ h}^{-1}$	$k_{1I} = 3,53 \text{ h}^{-1}$
$k_{21} = 0,20 \text{ h}^{-1}$	$k_a = 2 \text{ h}^{-1}$

Intervalo de administración: 4 h

hora	Dosis N° 1	Dosis N° 2	Estado estacionario
0,08	3,009	1,794	1,533
0,24	1,719	1,443	1,335
0,48	1,257	1,176	1,134
0,96	1,034	1,014	1,003
1,44	0,972	0,964	0,960
1,92	0,947	0,944	0,943
2,40	0,937	0,936	0,936
3,12	0,931	0,932	0,933
4,08	0,930	0,931	0,932

Tabla 6. Relación saliva/plasma simulada para *paracetamol* luego de dosis única y de dosis múltiple. ¹¹

CONCLUSIONES

El conocimiento de las causas que producen una variable relación S/P nos permite tomar ciertas precauciones.

No sería, pues, recomendable utilizar exclusivamente datos salivales en estudios de bioequivalencia y de biodisponibilidad. La figura 7 muestra un estudio de bioequivalencia de teofilinas de acción prolongada, efectuado con niveles salivales. Sin realizar mayores tratamientos estadísticos podríamos anticipar una bioequivalencia entre las dos marcas ensayadas. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas obtenidas entre las 9 y 12 horas del estudio (tabla 7)

Sujeto	Marca A n(mg/l)	Marca D (mg/l)
1	2,01	1,15
2	6,99	2,18
3	2,38	0,97
4	3,64	2,81
5	3,56	2,31
6	2,78	2,40
7	5,60	1,85
8	1,33	1,59

Tabla 7. Concentraciones plasmáticas obtenidas entre las 9 y 12 horas posteriores a la administración de 250 mg de teofilina de acción prolongada, en dosis única, sobre 8 voluntarios sanos. ²³

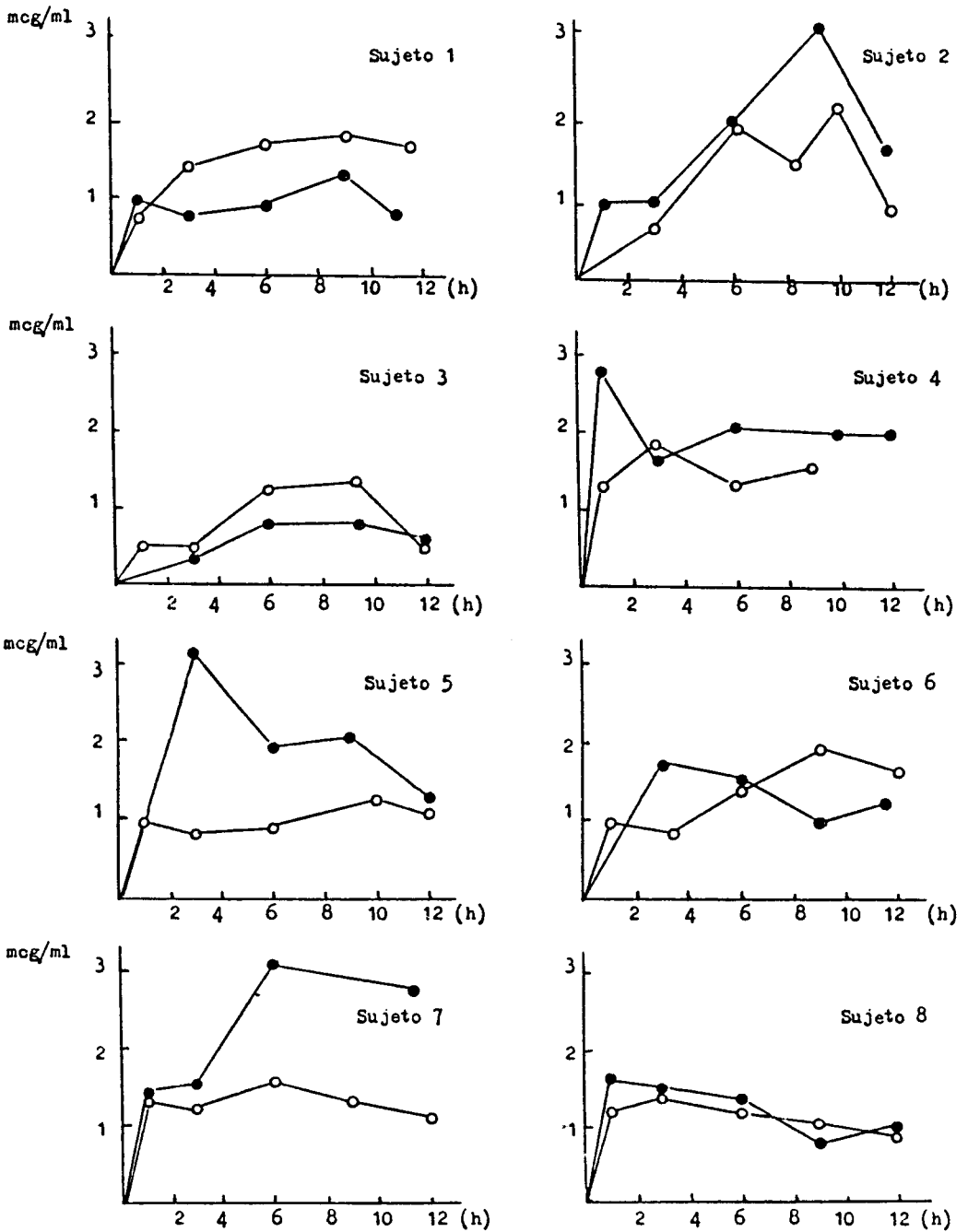


Figura 7. Concentraciones salivales obtenidas con la administración de 250 mg de teofilina de acción prolongada, en dosis única, sobre 8 voluntarios sanos. (●) Marca A, (○) Marca D. ²³

muestran una bioinequivalencia entre ambas marcas, que se correlaciona perfectamente con estudios de disolución *in vitro*.²³

La relación S/P puede ser muy útil para visualizar el mecanismo de absorción *in vivo*. Valores elevados durante largo períodos de tiempo indican que la absorción aún sigue operando y tal vez bajo forma de pulsos, como en las formas de liberación repetida.

Por el contrario, la monitorización en saliva es muy práctica para conocer la concentración en plasma, cuando se muestrea en una zona de franca eliminación y se conoce la relación S/P para un determinado sujeto o paciente.

En el estado estacionario luego de dosis múltiples, la relación S/P es más estable y el error que puede cometerse al estimar niveles plasmáticos a partir de concentraciones salivales es menor. La concentración

mínima al final del intervalo de administración puede exactamente evaluarse con datos de saliva, salvo que se trabaje con formas de liberación prolongada y se presuma que aún a dicho tiempo pueda producirse absorción.

Por otro lado resta considerar aún un campo muy especulativo pero todavía poco investigado y que es el importante valor terapéutico que tendrían los niveles salivales en aquellas sustancias que presentan los sitios de acción en tejidos bien perfundidos, tales como por ejemplo corazón y pulmón. En estos casos las tasas salivales al representar la concentración de droga libre, y por lo tanto farmacológicamente activa, pueden estar muy ligadas con el efecto farmacológico y/o tóxico. Es necesario profundizar aún más en este punto realizando adecuados estudios de correlación entre concentraciones salivales y efecto farmacológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Nur Ozmelek, H. (1979) *Bioavailability of rectal dosage forms determined from saliva as reference fluid*. Dissertation submitted to the Swiss Federal Institute of Technology, for the degree of Doctor of Natural Sciences. Zürich
2. Guyton, A.C. (1977) "Tratado de Fisiología Médica", Editorial Interamericana, México, págs. 865-6
3. Thaysen, J.H., N.A. Thorn e I.L. Schwartz (1954) *Amer. J. Physiol.* 178: 155-9
4. Horning, M.G., L. Brown, J. Nowlin, K. Lertranangkoon, P. Kellaway y T.E. Zion (1977) *Clin. Chem.* 23: 157-64
5. Ritchel, W. y G. Tompson (1983) *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 8: 511-25
6. Zuidema, J. y C. Van Ginneken (1983) *Pharm. Acta Helv.* 58: 88-93
7. Zuidema, J. y C. Van Ginneken (1983) *Pharm. Acta Helv.* 58: 136-43
8. Kamali, F., J.R. Fry y G.D. Bell (1987) *J. Pharm. Pharmacol.* 39: 150-2
9. Kayashi, Y., J. Watanabe, K. Iwamoto y S. Ozeki (1988) *J. Pharmacobio-Dyn.* 11: 438-43
10. Meffin, P.J., R.L. Williams, T.F. Blaschke y M. Rowland (1977) *J. Pharm. Sci.* 66: 135-7
11. Cardot, J.M., J.M. Aiache, R. Renoux y J.P. Kantelip (1985) *S.T.P. Pharma* 1: 128-31
12. Jonkman, J.H.G., G.H. Koeter, R. Schoenmaker, K. De Vries, J.E. Greving y R.A. Zeeuw (1981) *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 20: 73-8
13. Shah, V.P. y S. Riegelman (1974) *J. Pharm. Sci.* 63: 1283-5
14. Bruguerolle, B. y G. Bouvenot (1980) *Therapie* 25: 251-3
15. Plavsic, F., J. Cuiig, I. Bakran y B. Vrhovac (1981) *Br. J. Clin. Pharmacol.* 11: 553-4
16. Trnavska, Z., V. Rejholec, J. Elis y V. Spicak (1987) *Int. J. Clin. Pharm. Res.* 7: 329-35
17. Nakano, M., N. Ohmori, A. Ogata, K. Sugimoto, Y. Tobino, R. Iwaoku y K. Juni (1983) *J. Pharm. Sci.* 72: 378-80

18. Fagiolino, P. y R. Camacho (1986) *Estudio de bioequivalencia de comprimidos de paracetamol, por dosificación espectrofotométrica en saliva. III Reunión Latinoamericana de Ciencias Farmacéuticas, Montevideo*
19. Glynn, J.P. y W. Bastain (1973) *J. Pharm. Pharmacol.* 25: 420-1
20. Lowenthal, D.T., S. Oie, J.C. Van Stone, W.A. Briggs y G. Levy (1976) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 196: 570-8
21. Uden, D., K. Miller, L. Strand, P. Johnson y D. Zaske (1981) *Ther. Drug Monit.* 3: 143-50
22. Knop, H.J., R. Kalafusz, A.J.F. Knols, E. Van der Kleijn (1975) *Pharm. Weekblad.* 110: 1297-9
23. Fagiolino, P., G. Galante, A. Cousillas, P. Vila, S. Stareczek, E. Vivero, G. Lois y C. Prandi (1988) *Rev. Asoc. Esp. Farm. Hosp.* 12: 51-7
24. Koup, J.R., W.J. Jusko y A.L. Goldfarb (1975) *J. Pharm. Sci.* 64: 2008-10
25. Lowe, J.R. y J.S. Dixon (1983) *J. Pharm. Pharmacol.* 35: 390-1
26. Posti, J. (1982) *Pharm. Acta Helv.* 57: 83-92
27. Lam, G. y W.L. Chiou (1982) *J. Pharm. Pharmacol.* 34: 132-4
28. Mitenko, P.A. y R.I. Ogilvie (1972) *Clin. Pharmacol. Ther.* 13: 329-35
29. Mitenko, P.A. y R.I. Ogilvie (1973) *Clin. Pharmacol. Ther.* 14: 509-13
30. Macheras, P. y A. Rosen (1981) "Is monitoring of drug in saliva reliable for bioavailability testing of a protein bound drug? A theoretical approach". 1er. Congrès Européen de Biopharmacie et Pharmacocinétique, Clermont-Ferrand