



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**TALCO LIQUIDO DE KETOCONAZOL.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A

**PEDRO JURADO GONZALEZ**



MEXICO, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA**

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO.**

- Presidente.** Prof. Liliana Aguilar Contreras.  
**Vocal.** Prof. Samuel Enoch Estrada Soto.  
**Secretario.** Prof. Ernestina Hernández García.  
**1er Suplente.** Prof. Raúl Lugo Villegas.  
**2do Suplente.** Prof. Elizabeth Adriana Brito Martínez.

**Sitio donde se realizó el tema: Laboratorio de Tecnología Farmacéutica**



---

**Q.F.B Ernestina Hernández García.**

**Asesora.**



---

**Jurado González Pedro.**

**Sustentante.**

### **Agradecimientos:**

A mi mamá Zenaida González González, por su apoyo, a mi padre Pedro Jurado Olvera (q.p.d), a mis hermanos: Jaime, Angela, Leti, Ara (q.p.d), Yes y Alma. A mis sobrinos y a mi abuela Gabina Mendieta (q.p.d).

A mi Universidad y a mi Facultad, por darme una licenciatura y dejarme practicar un deporte fabuloso.

A los mejores maestros: Peguero, Oropeza, J. Manuel Morales, Francisco H., Alejandro, Lira Rocha, Artemisa, Ernestina C. y sobretodo a mi asesora Ernestina H. G.

A los peritos de PGR, por ser maestros y amigos: Gildardo, Guillermo, Rubén, Carlos, Dani y Elsa S.

A grupo Psicofarma, por darme mi primer empleo, sobretodo a todo el departamento de análisis fisicoquímico: Roberto, Tello, Erica, Arturo, David, Leo y César. Sin dejar de mencionar al departamento de control de calidad: Lucia, Mirna, Edith, Lulú, Manuel, Patricia, Antonio C. y Gloria

A todos aquellos que están y estarán dentro de las personas que más aprecio: Ismael Vázquez, Carlos Jáuregui, Carlos Motolinia, Guillermo Camacho, Chavelas, Sergio E., Tomás, Ernesto y Josué.

A mis amigas: Mariana, Sandra, Silvia, Yen, Janet, Belén, Gaby, Monse y Andrea.

A mis amigos del tocho: Mario C. Vilchis, Felipe y Jorge Trevilla.

Y lo mejor lo dejo para el último por eso no los pongo al final, ja, ja, no es cierto, ustedes saben como los quiero condenadotes, son como mis hermanos y se que no van a

leer mi tesis pero su amistad es lo mejor de todo el mundo y algo que ha durado ya mas de N años y seguirá adelante, a ustedes mi querido grupo 16 que han estudiado, chillado, bailado, enojado, festejado, preocupado y jugado conmigo, ah y aclaro que el orden no es por preferencia, así que comencemos: Anita, Eriquita, Karlita, Liz, Vane, Marce, Ayde, Vero, Myrna G., Lore, Emilio, Mario V., Gino, Armando, Pancho, Eric, Carlitos, Brindis, Toño, Mikey, Mario N., Mao, Obed, Vicente, José Luis, Ale, Juanito y Fernando. Nuevamente gracias por una amistad única.

Y a Araceli D. F. gracias por dejarme compartir contigo una parte de nuestras vidas.

## INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
CAPITULO I	
GENERALIDADES.....	3
1.1 Características Generales de los Hongos.....	3
1.1.1 Nutrición.....	3
1.1.2 Condiciones de Crecimiento.....	4
1.1.3 Clasificación.....	4
1.1.4 Micosis.....	5
1.1.4.1 Dermatofitosis.....	7
1.1.4.1.1 Epidemiología.....	7
1.1.4.1.10 Patogenia.....	12
1.1.4.1.2 Fuente de Infección.....	10
1.1.4.1.3 Vía de Entrada.....	10
1.1.4.1.4 Sexo y Edad.....	10
1.1.4.1.5 Ocupación.....	11
1.1.4.1.6 Raza.....	11
1.1.4.1.7 Periodo de Incubación.....	11
1.1.4.1.8 Factores de Predisposición.....	11
1.1.4.1.9 Frecuencia.....	11
1.1.4.2 Tiña de los pies o Tinea Pedis.....	12
1.1.4.2.1 Aspectos Epidemiológicos.....	13
1.1.4.2.2 Síntomas.....	13
1.1.4.2.3 Tratamiento.....	15
1.1.4.2.3.1 Tratamiento Tópico para Ingle y Pies.....	16
1.2 La piel.....	16
1.2.1 Glándulas sudoríparas Apócrinas.....	19
1.2.2 Glándulas Sebáceas.....	19
1.2.3 Factores de Penetración.....	20
1.2.3.1 Vehículos y Penetración.....	21
1.3 Ketoconazol.....	22
1.3.1 Antimicóticos tipo Azólico.....	22
1.3.1.1 Imidazoles.....	22
1.3.2 Ketoconazol.....	23
1.3.3 Formas Farmacéuticas con Ketoconazol de Aplicación Tópica.....	24
1.4 Suspensiones.....	25
1.4.1 Características de las Suspensiones Farmacéuticas.....	26
1.4.2 Floculación y Defloculación.....	27
1.4.3 Componentes comunes en Suspensiones.....	28
1.4.4 Clasificación de las Suspensiones Farmacéuticas.....	29
1.4.5 Evaluación de las Suspensiones.....	30
1.4.6 Usos de las suspensiones.....	32
1.5 TALCO LIQUIDO DE KETOCONAZOL.....	32
1.5.1 Talco o Polvo Líquido para los pies, con Ketoconazol.....	32
1.5.1.1 Mecanismo de Acción.....	33
1.5.1.2 Farmacocinética.....	34
1.5.1.3 Farmacodinamia.....	34
1.5.1.4 Contraindicaciones.....	34
1.5.1.5 Reacciones Secundarias y Adversas.....	34
1.5.1.6 Precauciones.....	34
1.5.1.7 Vía de administración.....	35
1.6 Desarrollo Farmacéutico.....	35
1.6.1 Diseño de experimentos.....	39
1.6.2 Diseño Factorial.....	40
1.7 FORMULACIÓN DEL TALCO LIQUIDO DE KETOCONAZOL.....	41
1.7.1 Excipientes.....	41
1.8 Desarrollo analítico.....	42
1.8.1 Procedimiento Analítico.....	42
1.8.2 Desarrollo del Método Analítico.....	43
1.8.3 Validación.....	44
1.8.3.1 Protocolo de Validación.....	45
1.8.4 Condiciones para Validar un Método Analítico.....	46
1.8.5 Etapas de la Validación en Métodos Analíticos.....	46
1.8.6 Parámetros por Validar.....	47
1.8.6.1 Parámetros.....	48
1.8.6.1.2 ESPECIFICIDAD.....	49
1.8.6.1.3 LINEALIDAD.....	50
1.8.6.1.4 RANGO.....	51

1.8.6.1.5 EXACTITUD.....	51	2.3 VALIDACION.....	70
1.8.6.1.6 PRECISION.....	53	2.3.1 ESPECIFICIDAD.....	70
CAPITULO 2		2.3.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA.....	73
2. Desarrollo Farmacéutico.....	55	2.3.3 Precisión del sistema.....	75
2.1.1 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.....	67	2.3.4 Linealidad y Exactitud del Método.....	75
2.1A Preformulación.....	55	2.3.5 REPRODUCIBILIDAD.....	76
2.1B Formulación.....	56	CAPITULO 3	
2.1B.1 Diseño de experimentos.....	58	RESULTADOS Y ANALISIS.....	78
2.1C Pruebas de ciclado.....	61	3.1A Preformulación.....	78
2.2.1 Desarrollo de un método analítico para la cuantificación de Ketoconazol en Talco Líquido.....	62	3.1B Formulación.....	80
2.2.2 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.....	65	3.2 Especificidad.....	88
2.2.3 Metodología para cuantificar Ketoconazol en producto terminado, placebo o placebo cargado.....	67	3.3 Linealidad del Sistema.....	91
		3.4 Precisión del Sistema.....	93
		3.5 Exactitud.....	93
		3.6 Reproducibilidad.....	95
		CAPITULO 4	
		CONCLUSIONES.....	99
		BIBLIOGRAFIA.....	101

#### DIAGRAMAS

Diagrama 1.1 Desarrollo Farmacéutico.....	38
Diagrama 2.1 Fabricación del Talco Líquido de Ketoconazol.....	58
Diagrama 2.2 Cuantificación de Ketoconazol mediante la técnica de espectrofotometría en la región ultravioleta.....	66
Diagrama 2.3 Extracción, Identificación y Cuantificación de Ketoconazol en Talco líquido.....	69, 87
Diagrama 2.4 Aplicación de las soluciones en la cromatoplaque.....	72

#### FIGURAS, TABLAS Y GRAFICAS

Figura 1.1 Planta de pie afectada por tinea pedis.....	14
Figura 1.2 Capas de la piel.....	16
Figura 1.3 Principales capas de la piel.....	20
Figura 1.4 Estructura básica de un imidazol.....	22
Figura 1.6 Estructura del Ketoconazol.....	24
Figura 1.7 Esquema de caja negra.....	43
Figura 1.8 Procedimiento para identificación de la muestra.....	43
Figura 2.1 Cubo para graficar las condiciones de los experimentos.....	60
Figura 3.1 Condiciones para obtener la viscosidad deseada.....	83
Figura 3.2 Representación de la placa.....	89
Figura 3.3 Cromatoplaque (placa 2).....	90
Tabla 1.1 Clasificación del reino <i>Fungae</i> .....	5
Tabla 1.10 Parámetros de la Validación de Métodos Analíticos.....	47, 70
Tabla 1.11 Parámetros a evaluar y criterio de aceptación.....	48
Tabla 1.12 Límites de porcentaje de recobro y coeficiente de variación.....	53
Tabla 1.13 Resultados de pH y viscosidad.....	82

Tabla 1.2 Clasificación de Deuteromicetes.....	6
Tabla 1.3 Hongos Patógenos y las enfermedades que producen.....	7
Tabla 1.4 Distribución geográfica de especies.....	8
Tabla 1.5 Especies comunes en México y sus porcentajes.....	9
Tabla 1.6 Importancia estadística de las tiñas.....	12
Tabla 1.7 Eritropatogenia de la tiña de pies.....	12
Tabla 1.8 Formas farmacéuticas comerciales más comunes que contienen Ketoconazol.....	25
Tabla 1.9 Características de las Suspensiones Floculadas y Defloculadas.....	27
Tabla 2.1A Características organolépticas de producto terminado.....	59
Tabla 2.1AB Especificaciones de Talco Líquido de Ketoconazol.....	61
Tabla 2.1B Especificaciones fisicoquímicas que debe cumplir el producto terminado.....	59
Tabla 2.1C1 Envase y tiempo de ensayo.....	61
Tabla 2.1C2 Envase y tiempo de ensayo.....	62
Tabla 2.2 Porcentajes de factores.....	59
Tabla 2.3 Experimentos por realizar.....	60
Tabla 2.4 Preparación de las soluciones por aplicar en la cromatoplaque.....	71
Tabla 2.5 Preparación de soluciones, por aplicar en la placa 2.....	73
Tabla 2.6 Alicuotar por tomar para obtener las concentraciones deseadas.....	74
Tabla 2.7 Cantidades de principio activo agregado al placebo.....	76
Tabla 2.8 Tabulación de resultados.....	77
Tabla 2B Características de "Bate and Body Works".....	57
Tabla 3.1A Resultados de Rf en la placa 1.....	88
Tabla 3.1B Resultados de Rf en la placa 2.....	90
Tabla 3.2 Absorbancias medidas.....	91
Tabla 3.3 Absorbancias para el cálculo de linealidad del sistema.....	92
Tabla 3.4A Absorbancias obtenidas con tres diferentes cantidades de Ketoconazol.....	93
Tabla 3.4B Cantidades adicionadas y cantidades recuperadas.....	94
Tabla 3.4C Porcentajes de recobro para diferentes cantidades de Ketoconazol adicionado.....	94
Tabla 3.4D Datos tabulados a partir de la tabla 3.4C.....	95
Tabla 3.5A Tabulación de dos analistas, dos diferentes días por duplicado usando producto terminado.....	96
Tabla 3.5B Resultados del porcentaje de recobro.....	96
Tabla 3.6 Resultados prueba ANOVA.....	97
Gráfica 3.1 Relación Lineal Absorbancia - Concentración.....	92
Gráfica 3.2 Relación entre cantidad recuperada en función de la cantidad adicionada.....	95



## INTRODUCCIÓN.

Las micosis superficiales implican la colonización de la piel, cabello o las uñas e infectan solamente las capas superficiales.

La tiña de pies o conocida como "pie de atleta" es un problema muy común en México, que se presenta debido a diversos factores tales como el uso de zapato cerrado, uso de baños públicos, albercas e incluso convivencia con animales domésticos.

Existen diversas opciones para la profilaxia y tratamiento en contra del pie de atleta tal es el caso del principio activo ketoconazol el cual es un antimicótico de tipo imidazólico además tiene la ventaja de que su aplicación tópica no genera concentraciones plasmáticas del principio activo debido a que penetra a la capa cornea, de donde se desprende posteriormente con la descamación de las células cornificadas.

Los agentes antimicóticos de aplicación tópica para tratamiento de micosis superficiales se han presentado en diferentes formas farmacéuticas, tales como: shampoos, cremas, soluciones, pomadas y talcos.

El presente trabajo muestra el desarrollo una forma farmacéutica en suspensión y de aplicación tópica llamada "**Talco Líquido**", el cual contiene **ketoconazol** como principio activo.

Comparando las formulaciones en polvo con "**Talco Líquido de Ketoconazol**", éste ofrece un ahorro de producto y un efecto refrescante. En comparación con formulaciones semisólidas como geles, pomadas y cremas, "**Talco Líquido de Ketoconazol**", no es grasoso o pegajoso, ofrece un efecto refrescante, además deja una capa de talco sobre la zona de aplicación.

## **OBJETIVOS GENERALES.**

- Desarrollar una Forma Farmacéutica antimicótica de aplicación tópica en suspensión (Talco Líquido de Ketoconazol), mediante el diseño de experimentos, la cual será una nueva alternativa para el tratamiento y profilaxia de un problema común en México, la tiña de pies comúnmente llamada pie de atleta.

## **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- Desarrollar un procedimiento para la cuantificación de Ketoconazol en "Talco Líquido", mediante la técnica de espectrofotometría por Ultra Violeta.
- Validar el Procedimiento Desarrollado para la cuantificación de Ketoconazol en "Talco Líquido", mediante la evaluación de: exactitud, precisión, linealidad y rango. Para tener un método de control en producto terminado.

## **CAPITULO I. GENERALIDADES.**

### **1.1 Características Generales de los Hongos.**

Los hongos son organismos eucariontes con núcleos bien organizados, cuya membrana nuclear está bien definida; son aerobios, heterótrofos y no móviles. Se reproducen por esporas sexuales y asexuales. Tienen dos tipos de células fúngicas, las somáticas, cuyo núcleo es pequeño y su división es mitótica. El segundo tipo de células son las reproductoras, cuyo núcleo es más grande y su división es por meiosis. Los hongos casi siempre son pluricelulares pero también hay unicelulares como las levaduras.

Los hongos poseen mitocondrias, retículo endoplásmico y aparato de Golgi. La membrana celular basal está bien organizada y contiene gran cantidad de esteroides, propiedad que los hace muy diferentes de otros organismos, de aquí el mecanismo de acción de algunos fungistáticos como polienos y azoles, que bloquean la formación de éstos componentes celulares (esteroides) y por lo tanto dejan una membrana defectuosa.

La pared celular es una de sus estructuras características, básicamente está formada por quitina (N-acetil glucosamina), celulosa, glucanas, mananas y algunos glicopéptidos; estos compuestos dan rigidez a la pared celular y son de importancia en la taxonomía y propiedades antigénicas.<sup>(1)</sup>

#### **1.1.1 Nutrición.**

Los hongos no son fotosintéticos; su nutrición siempre es por absorción de sustancias orgánicas simples o elaboradas, se realiza de dos maneras: como saprofitos, cuando toman sus nutrientes de materia orgánica muerta o en descomposición, y la segunda como parásitos, cuando se nutren de materia viva. Los hongos no pueden manufacturar sus

propios nutrientes, su fuente primordial es a base de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, sales de nitrógeno y carbohidratos, sobre todo glucosa, sacarosa y maltosa; necesitan de los iones inorgánicos más comunes. Pueden sintetizar vitaminas, que les son necesarias para el crecimiento y reproducción, pero hay especies que llegan a ser deficientes de estas, y requieren tomarlas del medio externo. Pueden almacenar ácidos-grasos, acil-gliceroles y glucógeno en vacuolas. <sup>(1)</sup>

### 1.1.2 Condiciones de Crecimiento.

Existen condiciones óptimas para cada especie, la mayoría de los hongos crecen entre 0 y 55°C, teniendo un rango de temperatura entre 20 y 30°C. Los hongos patógenos y oportunistas pueden crecer entre 35 y 40°C.

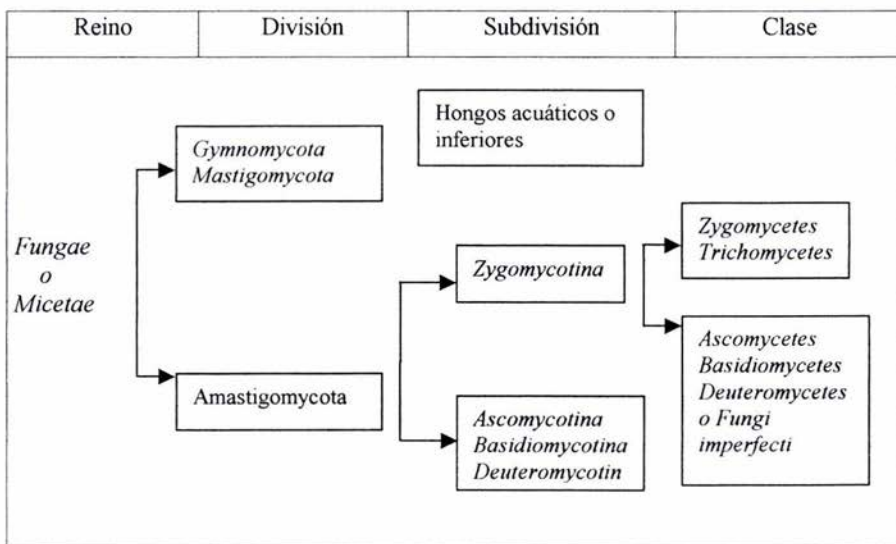
Los hongos son acidófilos, crecen mejor entre pH 5.6 a 6.8. La luz no es vital, sin embargo, para muchas especies ésta juega un papel importante en la esporulación. Para su crecimiento son indispensables fuentes de carbono (carbohidratos), nitrógeno (sales de nitrógeno, proteínas), agua y iones inorgánicos básicos. <sup>(1 y 2)</sup>

### 1.1.3 Clasificación.

La primera clasificación que surgió fue la empírica, que divide a los hongos en 4 grupos según sus características macroscópicas. Estos son: setas, mohos o filamentos, levaduras y actinomicetos.

La clasificación anterior tiene validez, para reconocer a los hongos trivialmente. Bajo el punto de vista microscópico y macroscópico solo hay dos tipos: **mohos**, éstos dan colonias filamentosas y circulares en medios con agar, y las levaduras, las cuales dan colonias cremosas.

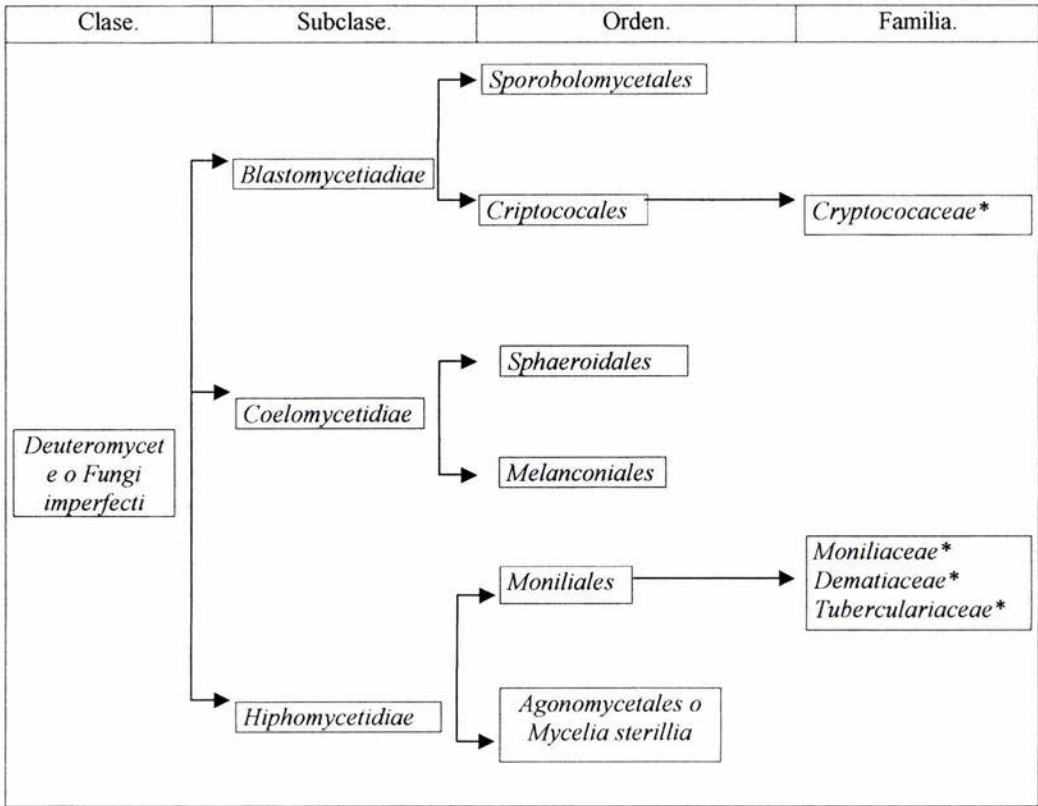
La Tabla 1.1, muestra una clasificación actual del reino *Fungae*. La Tabla 1.2, muestra la clasificación de *Deuteromycetes* o *Fungi imperfecti*. <sup>(1 y 2)</sup>



**Tabla 1.1** Clasificación actual del reino *Fungae*.<sup>(2)</sup>

#### 1.1.4 Micosis.

La multiplicación de un hongo sobre o dentro del cuerpo se denomina *micosis*. Existen tres tipos de micosis: **subcutáneas**, **sistémicas** y **superficiales**. Las micosis **superficiales** implican la colonización de la piel, cabello o las uñas e infectan solamente las capas superficiales. La tabla 1.3, muestra algunos hongos patógenos y las enfermedades que producen.<sup>(1 y 2)</sup>



\*Familias que incluyen la mayor parte de hongos patógenos y oportunistas.

**Tabla 1.2** Clasificación de los *Deuteromycetes*. <sup>(2)</sup>

Enfermedad	Agente etiológico	Principales zonas afectadas
<b>Micosis superficiales. (dermatomicosis)</b>		
Tiña	<i>Microsporum</i>	Cuero cabelludo de niños
Tiña favosa	<i>Trichophyton</i>	Cuero cabelludo
Pie de atleta	<i>Epidermophyton, Trichophyton</i>	Entre los dedos de los pies, piel
Tiña inguinal	<i>Trichophyton, Epidermophyton</i>	Región inguinal
<b>Micosis subcutáneas.</b>		
Esporotricosis	<i>Sporothrix schenckii</i>	Brazos, manos
Cromoblastomicosis	Varios géneros de hongos	Piernas, pies
<b>Micosis sistémica.</b>		
Criptococosis	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Pulmones, meninges
Coccidiomicosis	<i>Coccidioides immitis</i>	Pulmones
Histoplasmosis	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Pulmones
Blastomicosis	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Pulmones, piel
Candidiasis	<i>Candida albicans</i>	Cavidad oral, tracto intestinal

**Tabla 1.3** Algunos hongos patógenos y las enfermedades que producen. <sup>(2)</sup>

#### 1.1.4.1 Dermatofitosis.

Las dermatofitosis o comúnmente llamadas tiñas, son un conjunto de micosis superficiales que afectan la piel y sus anexos (uñas y pelo), son causadas por un grupo de hongos patógenos de la tiña, llamados **dermatofitos**, y que excepcionalmente invaden tejidos profundos. <sup>(1 y 2)</sup>

##### 1.1.4.1.1 Epidemiología.

Las características generales de la epidemiología de los dermatofitos, y de sus padecimientos se tratan enseguida: <sup>(1 y 2)</sup>

#### 1.1.4.1.1 Distribución geográfica

Las tiñas son padecimientos cosmopolitas, aunque se presentan casi siempre en climas cálidos y húmedos. Los dermatofitos son mas bien los que tienen una distribución geográfica establecida, algunas especies en zonas muy restringidas, aunque se pueden encontrar en todos los continentes, por ejemplo: *T. rubrun*, es una de las cepas reportadas mundialmente, sobre todo provocando tiñas de pies y uñas. Otras cepas que tienen una distribución mundial son *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale* y *M.canis*.

Hay ejemplos muy palpables de la relación con respecto a la raza, y de cómo las migraciones poblacionales pueden cambiar la etiología; hace 20 años en los E.U.A. la tiña de la cabeza y cuerpo era producida normalmente por *M. audouinii*, dermatofito frecuente en Europa, de donde seguramente fue traído, en la actualidad y sobre todo en el norte y sur de E.U.A., el agente etiológico más aislado es *T. tansurans*, dermatofito común en México y Latinoamérica, sin duda ha sido llevado por las grandes migraciones.<sup>(1 y 2)</sup>

Otros ejemplos de dermatofitos que tienen zonas geográficas restringidas se muestran en la Tabla 1.4.

Lugar.	Tipo.
Oriente y Europa.	<i>T. violaceum</i> y <i>T. shoenleinii</i>
Asia, sobre todo en Japón.	<i>M. ferrugineum</i>
India, China, Polinesia y México.	<i>T. concentricum</i>
África ecuatorial.	<i>T. soudanense</i>
India y Ceilán.	<i>T. simii</i>

Tabla 1.4 Distribución geográfica de especies.<sup>(2)</sup>



Por lo que respecta a México los 5 dermatofitos más frecuentes se muestran en la Tabla 1.5. Esporádicamente se aíslan un 3% de: *M. gypseum*, *M. nanum*, *T. violaceum*, *T. coccincentricum*, y *T. ochraceum*.

Tipo	Porcentaje
<i>T. rubrum</i>	70
<i>T. mentagrophytes</i> , incluyendo a <i>T. interdigitale</i> )	10
<i>T. tonsurans</i>	3
<i>M. canis</i>	13
<i>E. floccosum</i>	1

**Tabla 1.5** Especies comunes en México y sus porcentajes. <sup>(2)</sup>

La bibliografía sugiere tres tipos de hábitad para los dermatofitos: geofílicos, zoofílicos y antropofílicos, si bien es cierto que para cada especie se tiene un hábitad predominante, éste no es exclusivo.

- **Geofílicos.** Dermatofitos que regularmente viven en la tierra y en raras ocasiones atacan a los animales y al hombre. La especie más común es *M. gypseum*, que produce tiñas de la cabeza, cuerpo y uñas, sobretodo en niños e individuos que están en contacto con la tierra.
- **Zoofílicos.** Son los que normalmente atacan a los animales y por el contacto de estos al hombre. Se puede dividir en dos grupos, el primero afecta a los animales doméstico-urbanos, que provoca la mayor cantidad de tiñas en el hombre, por el constante contacto con ellos; sobresale *M. canis*, que tiene como reservorio natural a perros y gatos y es causante del 70% de las tiñas en México. Existe otro grupo de dermatofitos zoofílicos, que atacan regularmente animales de granja y medios rurales, éstos excepcionalmente atacan al hombre y provocan un tipo de tiñas más agresivas, quizás por el escaso reconocimiento inmunológico que tienen variantes antigénicas con respecto al aparato inmune humano. Como ejemplos más comunes tenemos: *T. ochraceum*, que afecta a gatos, vacas, etc; *M. nanum* a cerdos; *T.*

*equinum* a caballos, vacas y burros; *T. gallinae*, a aves de corral, y *T. simii* a monos y chimpancés.

- **Antropofílicos.** Son aquellos que atacan regularmente al hombre y excepcionalmente a los animales. Se dividen en tres subgrupos:
  - a. Cosmopolitas. El ejemplo más claro es *T. rubrum*, reportado en la mayor parte del mundo.
  - b. Distribución restringida, por ejemplo: *M. ferrugineum* común en Asia; *T. soudanense*, en África.
  - c. Antropofílicos estrictos, como son *T. concentricum* y *T. interdigitale*.

La importancia de conocer el hábitad de los dermatofitos, es debido a que proporciona información sobre el origen de la infección, además de explicar el por qué algunas tiñas son más inflamatorias que otras, o bien su capacidad para adaptarse a planos más profundas de la dermis, regularmente causados por hongos antropofílicos.

#### **1.1.4.1.2 Fuente de Infección.**

Depende del hábitad del dermatofito; las esporas de los hongos se pueden transportar a través del aire o por sábanas, almohadas, cepillos, peines, zapatos, toallas, etc. La fuente de infección también puede ser el humano, por transmisión directa hombre-hombre.<sup>(1 y 2)</sup>

#### **1.1.4.1.3 Vía de Entrada.**

El solo contacto de las esporas de los dermatofitos con la piel y anexos es capaz de generar enfermedad, aunque se sugieren factores de predisposición, de tipo genético o inmunológico.<sup>(2)</sup>

#### **1.1.4.1.4 Sexo y Edad.**

Las tiñas pueden presentarse a cualquier edad, en cualquier sexo, en algunas entidades hay preferencias, por ejemplo la tiña de la cabeza es casi exclusiva de los niños, y

al alcanzar la pubertad prácticamente desaparece; en cambio la tiña de los pies, uñas e ingle, son comunes en los adultos y rara vez en los niños.<sup>(2)</sup>

#### **1.1.4.1.5 Ocupación.**

Hay algunas actividades que favorecen la dermatofitosis, por ejemplo la tiña de los pies es común en militares, deportistas y nadadores, por mantener los pies en constante humedad.<sup>(2)</sup>

#### **1.1.4.1.6 Raza.**

No hay susceptibilidad de la raza a excepción de la tiña de Tokelau, que se presenta en individuos de raza pura, y sobretodo de origen polinesio o africano.<sup>(2)</sup>

#### **1.1.4.1.7 Periodo de Incubación.**

Es variable, normalmente de 7 a 15 días.<sup>(2)</sup>

#### **1.1.4.1.8 Factores de Predisposición.**

Uno de los factores es el clima, ya que en lugares húmedos y tropicales se observa el mayor número de tiñas. De igual importancia, son los malos hábitos higiénicos, uso de zapato cerrado, etc. En el caso de individuos diabéticos las tiñas se extienden con facilidad.

El abuso de esteroides de uso tópico. Muchos autores coinciden en que existen factores genéticos e inmunológicos, los cuales influyen en que las tiñas se extiendan o se presenten.<sup>(2)</sup>

#### **1.1.4.1.9 Frecuencia.**

La tiña es un padecimiento muy común en México, se encuentra dentro de las 10 dermatofitosis más frecuentes de la consulta dermatológica general, y en áreas tropicales de nuestro país, llega a ocupar uno de los tres primeros lugares estadísticos.<sup>(2)</sup>

La Tabla 1.6, muestra la importancia estadística de las tiñas, en México.

FRECUENCIA EN MÉXICO				
Tiña de:	1952 (%)	1979 (%)	1991(%)	2000 (%)
<b>Cabeza</b>	53.7	3.8	2.6	1.8
<b>Cuerpo</b>	19.6	19.3	16.4	14.5
<b>Pies</b>	17.5	48.0	51.3	53.0
<b>Ingle</b>	00.0	12.6	6.4	5.6
<b>Uñas</b>	9.2	16.0	23.1	25.1

**Tabla 1.6.** Importancia estadística de las tiñas. <sup>(2)</sup>

#### 1.1.4.1.10 Patogenia.

Debido a que los dermatofitos son queratinofilicos, el contacto de las esporas con los tejidos queratinizados como piel y anexos (pelo y uñas), podría dar inicio a la dermatofitosis. <sup>(2)</sup>

#### 1.1.4.2 Tiña de los Pies o *Tinea Pedis*.

Es una dermatofitosis superficial, que afecta a los pies, sobre todo en pliegues interdigitales, plantas, y esporádicamente el dorso; es causado generalmente por algunas especies de *Trichophyton* y *Epidermophyton*. También es conocida como; pié de atleta, dermatofitosis podal, tiña podal. La Tabla 1.7 muestra la epitopatogenia de la tiña de pies. <sup>(2)</sup>

Especie.	% de especies aisladas en México.
<i>T. rubrum</i> .	85
<i>T. mentagrophytes</i> (incluye a <i>T. interdigitale</i> )	15
<i>E. floccosum</i>	5

**Tabla 1.7** Epitopatogenia de la tiña de pies. <sup>(2)</sup>

Esporádicamente se aislan, *M. canis*, *M. gypseum* y *T. tonsurans*.

#### 1.1.4.2.1 Aspectos Epidemiológicos.

El pie de atleta es un trastorno de la piel muy común, puede presentarse asociado con otras infecciones de la piel por hongos, tales como la dermatofitosis y la tiña inguinal.

Es un padecimiento cosmopolita, frecuente en climas cálidos y húmedos, su fuente de infección es a través de otra persona enferma, también pueden transmitirse a través del contacto con mascotas portadoras del hongo, pero sobre todo se obtiene por el contacto en baños públicos, piscinas, deportivos, toallas, calcetines y calzado. Es casi exclusiva de adultos, y esporádicamente en niños, en éstos últimos sobre todo si son nadadores o que usan constantemente calzado de plástico. La enfermedad se presenta en ambos sexos, es predominante el sexo masculino en relación 2:1; quizás se deba a que los hombres usan con mayor frecuencia zapato cerrado y/o de goma. No hay predisposición de raza, ni ocupación preferente, pero se observa con más frecuencia en deportistas, obreros, mineros, etc. En campesinos prácticamente no se encuentra por el uso de zapato abierto ("huaraches").<sup>(2)</sup>

Esta condición se caracteriza por la presencia de placas en forma de anillo, rojas y escamosas, con zonas más claras en el centro. El riesgo de contraer tiña aumenta si una persona:

- ✓ Está desnutrida.
- ✓ Tiene hábitos higiénicos deficientes.
- ✓ Vive en un clima cálido.
- ✓ Mantiene contacto con personas o mascotas que padecen la afección.

El pie de atleta puede tener una duración corta o larga y puede reaparecer después del tratamiento.

#### 1.1.4.2.2 Síntomas.

Los **síntomas** del pie de atleta pueden incluir:

- Blanqueado de la piel entre los dedos de los pies.
- Descamación de los pies.

- Erupción con picazón en los pies.
- Ampollas en los pies.

Los pacientes con tiña de los pies, pueden presentar algunas complicaciones, las más comunes son: dermatitis por contacto e infecciones bacterianas secundarias. La complicación más común es la dermatitis, se origina por el tratamiento con remedios caseros, provocando que la tiña se presente de manera más inflamatoria, con edema, vesículas, ampollas y costras hemáticas; el prurito no solo persiste, sino que se intensifica.<sup>(2)</sup>

La figura 1.1 muestra la planta del pie de un individuo afectado con *Tinea pedis*.



**Figura 1.1** Planta de pie afectada con *Tinea pedis*.<sup>(2)</sup>

### 1.1.4.2.3 Tratamiento.

El pie de atleta generalmente se resuelve con el cuidado mismo de la persona afectada, siguiendo estas recomendaciones<sup>(2)</sup>:

- Mantener la piel limpia y seca.
- Lavar bien con jabón y agua y secar el área completamente y con mucho cuidado.
- Usar un secador de pelo para los pies para retirar el exceso de agua de las capas externas de la piel y es más efectivo que secar los pies con una toalla.
- Usar medias limpias y cambiarlas, al igual que los zapatos, lo más frecuentemente posible para mantener los pies secos.
- Utilizar cremas y talcos tópicos **antimicóticos**.

#### 1.1.4.2.3.1 Tratamiento tópico, para ingule y pies.

Generalmente se aplican por periodos cortos de dos a tres semanas. La mayoría se aplican en forma de cremas, hay algunos en solución o en atomizadores.

Tintura de yodo al 1%, se aplica en forma de toques, es una solución muy efectiva contra la tiña de pies, el único inconveniente es que mancha la piel.

Queratolíticos, se pueden usar sobre todo en tiñas hiperqueratósicas de los pies y manos, los más importantes son: ácido salicílico (1-8%); urea (10-30%); ácido salicílico + ácido benzoico (pomada de Withfield).

Los derivados carbamilados: tolnaftato y tolclolato, se aplican dos veces al día, con buenos resultados.

Derivados azólicos: son una serie de medicamentos que sin duda son los de más uso, son fármacos de amplio espectro (como dermatofitos y hongos levaduriformes), se aplican una o dos veces al día, por dos o tres semanas; algunos de ellos tienen propiedades extras, en su perdurabilidad, penetración y efectos anti-inflamatorios, los más empleados

son: bifenazol, clotrimazol, econazol, flutrimazol, isoconazol, ketoconazol, miconazol, omoconazol y oxiconazol.

Antes de entrar de lleno a describir al principio activo y la formulación, presento algunas características importantes de la superficie orgánica donde se aplicará el producto terminado.<sup>(2)</sup>

## 1.2 La piel.

La piel sirve como barrera de protección en contra de ataques químicos y físicos. Algunos materiales pueden penetrar y otros no. La piel actúa como termostato para mantener la temperatura del cuerpo, escudo contra invasión por microorganismos, protege contra los rayos ultravioleta y juega un papel importante en la regulación de la presión sanguínea.

El pH de la piel varía de 4.5 a 6.5, dependiendo de la zona del cuerpo. Anatómicamente, la piel tiene varias capas, en general son tres tejidos: la Epidermis, Dermis y capa Hipodermis. La figura 1.2 muestra un diagrama de las capas de la piel.<sup>(3,4)</sup>

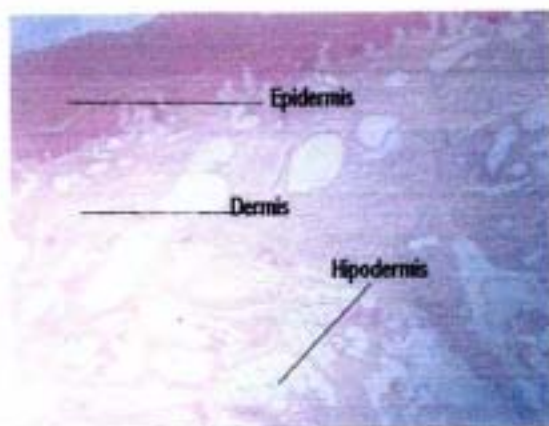


Figura 1.2 Capas de la piel.<sup>(4)</sup>



**Epidermis:** Es la capa más externa y tiene un promedio de medio milímetro de espesor, aunque es mucho más gruesa en las palmas y en la planta de los pies.

Pueden distinguirse dos zonas en la **Epidermis**; una región de células hidratadas viables, denominadas capa malpighiana y otra externa de células desecadas, no viables, aplanadas, anucleadas, conocida como **estrato córneo o capa córnea**, que se encuentra en constante descamación, así nuestra piel se renueva constantemente. La capa más externa, la capa córnea, consta de células muertas compactadas y queratinizadas en capas estratificadas. La densidad natural de la capa córnea, hace que el coeficiente de difusión sea miles de veces más pequeño en comparación con otros tejidos, el resultado es una alta resistencia e impenetrabilidad. La composición principalmente son; proteínas (75 - 85%), lípidos (20%) y agua (20%), en estructura ordenada.

La capa malpighiana consta de tres capas, ordenadas de la más profunda a la menos profunda son: capa basal o germinativa, capa espinosa y capa granulosa.

- La capa basal o germinativa está formada por una hilera de células cilíndricas dispuestas perpendicularmente (queratinocitos) con gran actividad y que constantemente regeneran la epidermis. En esta capa se encuentran los melanocitos, células en forma de estrella con prolongaciones llamadas dendritas, las cuales son responsables de la fabricación de melanina. Además en esta capa se encuentran células de Langerhans, encargadas de presentar el antígeno a los linfocitos e iniciar la respuesta inmune.
- La capa espinosa se sitúa por encima de la basal y se unen entre sí constituyendo un armazón sólido.
- La capa granulosa está formada por elementos celulares aplanados, estas células no poseen la capacidad de dividirse ya que están dedicadas a la síntesis o formación de **queratina**.
- El estrato lúcido, se encuentra en zonas donde la capa córnea es gruesa (palma y plantas: está formada por dos o tres capas de células aplanadas, sin núcleo, semejantes a una línea semitransparente, su aspecto se debe a una sustancia de aspecto oleoso llamada eleidina).

Es importante mencionar que las células que forman estos diversos estratos no son de origen distinto, son estadios diferentes en la vida de una misma célula epidérmica llamada queratinocito; el cual evoluciona gradualmente de célula activa de la capa basal, hasta la célula muerta de descamación del estrato córneo.

La **Dermis** forma la mayor porción de la piel y constituye un soporte importante de este órgano. Tiene un espesor de cuatro milímetros. Se divide en tres zonas, siendo de la más superficial a la más profunda: Dermis papilar, dermis reticular y dermis profunda. Todas estas capas forman un sistema de fibras entrelazadas, embebidas en una sustancia llamada "sustancia fundamental", constituida por proteínas, electrolitos, glucosa y agua, donde hay una extensa variedad de células.

En la dermis también se encuentran los anexos cutáneos y glandulares (glándulas sebáceas y sudoríparas). También se encuentran los vasos sanguíneos que irrigan la piel (la epidermis no posee vasos) y las terminaciones nerviosas.

Las fibras que constituyen a la dermis y que proporcionan flexibilidad, elasticidad y tersura son:

- Fibras de colágeno: principal componente de la dermis y que al microscopio, se observa de aspecto blando y ondulado.
- Fibras elásticas: responsables de la elasticidad.
- Fibras de reticulina: son muy escasas y se disponen alrededor de los anexos (pelos, uñas y glándulas) y de los vasos sanguíneos.

La **Hipodermis** es la capa más profunda de la piel, también se llama tejido celular subcutáneo, se constituye de una gran cantidad de adipocitos (células grasas) dispuestas en lóbulos separados por fibras de colágeno y elásticas llamadas trabéculas, su función es proporcionar amortiguación entre las capas externas de la piel y las estructuras internas, tales como hueso y músculo, provee reserva energética, permite movilidad de la piel, moldea el contorno corporal y aísla el cuerpo.

La regulación del volumen total de la sangre en la piel se reduce por la vasoconstricción y vasodilatación de la circulación cutánea estos procesos están regulados por secreción local de sustancias químicas como acetilcolina, hormonas como la adrenalina y en el caso de lesión cutánea histamina, proveniente de los mastocitos de la dermis.

Junto con la adolescencia llegan cambios tales como la tersura de la piel, sobre todo en el hombre, gracias a la aparición de vello grueso, barba y bigote, también inicia el funcionamiento de glándulas sudoríparas apócrinas que producen un olor característico.

### **1.2.1 Glándulas Sudoríparas Apócrinas.**

Son estructuras tubulares complejas y con espirales excretorios, secretan un material viscoso que con la acción bacteriana superficial causan olores y proporcionan los olores distintivos del hombre.

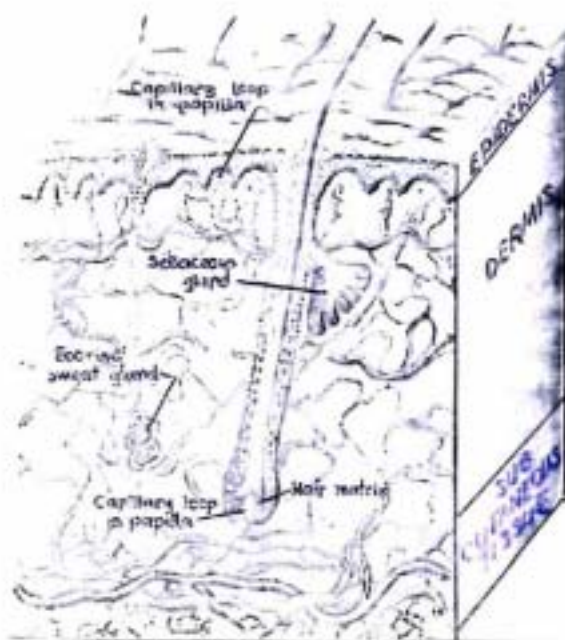
Se encuentran en mayor número en axilas, piel genitocrural, en las areolas mamarias y conducto auditivo externo.<sup>(4)</sup>

### **1.2.2 Glándulas Sebáceas.**

Las glándulas sebáceas secretan sebo, que constituye la mayoría del lípido que cubre la piel y el cabello, las concentraciones más altas se encuentran en cuero cabelludo, cara y parte superior de pecho y hombros. Los lípidos son sintetizados en la piel por las glándulas sebáceas y en la epidermis.

Los lípidos de la glándula sebácea son secretados como sebo, pero los que se sintetizan en la epidermis se considera que son para desempeñar un papel estructural en la conservación de la función protectora y en la integridad del estrato córneo.<sup>(4)</sup>

La siguiente figura 1.3 muestra las principales capas de la piel.



**Figura 1.3 Principales capas de la piel.<sup>(1)</sup>**

El objetivo de la farmacoterapia dermatológica es producir el efecto terapéutico deseado en sitios específicos del tejido epidérmico. Algunos fármacos al mismo tiempo son emolientes, antibacterianos y desodorantes, actuando primero en la superficie de la piel, el área "diana" puede estar dentro de la epidermis o en la dermis. Por lo que se requieren factores de penetración o de absorción percutánea.

### **1.2.3 Factores de Penetración.<sup>3)</sup>**

La difusión ocurre vía folículos y ductos y en el estrato córneo, resultando en la absorción percutánea.

La penetración depende primordialmente de características fisicoquímicas de la molécula o principio activo, pasando a segundo término el vehículo, pH y concentración. Los diferentes valores fisiológicos, tales como; condiciones de la piel, por ejemplo si está dañada o sana, la edad, el área tratada, grosor de la piel y la humedad.

El principal factor fisicoquímico de la piel, es el grosor del estrato córneo, lo que afecta la penetración. La temperatura de la piel y la concentración de fármaco, juegan un papel significativo, pero son secundarios, respecto a la hidratación.<sup>(3)</sup>

La solubilidad del fármaco determina la concentración presente en el sitio de absorción, y el coeficiente de partición influye en la velocidad de transporte. La absorción y el peso molecular, tienen una relación inversa.

### **1.2.3.1 Vehículos y Penetración.**

El vehículo altera la actividad del agua dentro el estrato córneo e influye en el coeficiente de partición **estrato córneo / vehículo**.

Las sustancias con afinidad grande por el agua tales como humectantes, pueden deshidratar el estrato córneo y disminuyen la penetración. Los polvos aumentan la superficie de contacto y la velocidad de evaporación del agua, disminuyendo el excedente de hidratación.

Aún no esta muy claro el papel que juegan los vehículos en la penetración del fármaco a través de la piel. La liberación del principio activo se favorece gracias al vehículo con baja afinidad para penetrar o en el cual el fármaco sea poco soluble.

Hay materiales que han sido probados para incrementar la absorción del fármaco , los cuales incrementan la permeabilidad y disminuyen la resistencia a la difusión, algunos de estos materiales son el dimetilsulfoxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), dimetilacetamida (DMA), propilenglicol, urea y agentes surfactantes.

A continuación se muestra un pequeña revisión de antimicóticos tipo azólico y algunas características físicas y químicas del principio activo, que se utilizará en la formulación.<sup>(9)</sup>

### 1.3 Ketoconazol.

#### 1.3.1 Antimicóticos tipo Azólico.

Los **antimicóticos azólicos** incluyen dos clases generales que son los **imidazoles** y triazoles. Ambos comparten el mismo espectro y mecanismo de acción contra los hongos<sup>(5)</sup>.

##### 1.3.1.1 Imidazoles.

El imidazol es un heterociclo plano. El sistema imidazólico puede actuar como ácido o como base. El imidazol libre, es una base moderadamente fuerte ( $pK_a = 7$ ), y también puede actuar como ácido débil ( $pK_a = 14.5$ ).<sup>(6)</sup>

Según la nomenclatura de heterociclos, para anillos insaturados, que contienen nitrógeno, el tamaño del anillo se designa con sufijos; *-ol* que significa cinco e *-ina* que significa seis.<sup>(7)</sup>

Por lo que un imidazol es una estructura cíclica insaturada de 5 miembros, con dos heteroátomos de nitrógeno. Tal como se muestra en la figura 1.4. La figura 1.5 presenta ejemplos de fármacos imidazólicos.

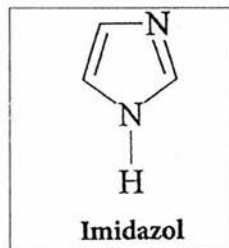


Figura 1.4 Estructura básica de un Imidazol.<sup>(7)</sup>

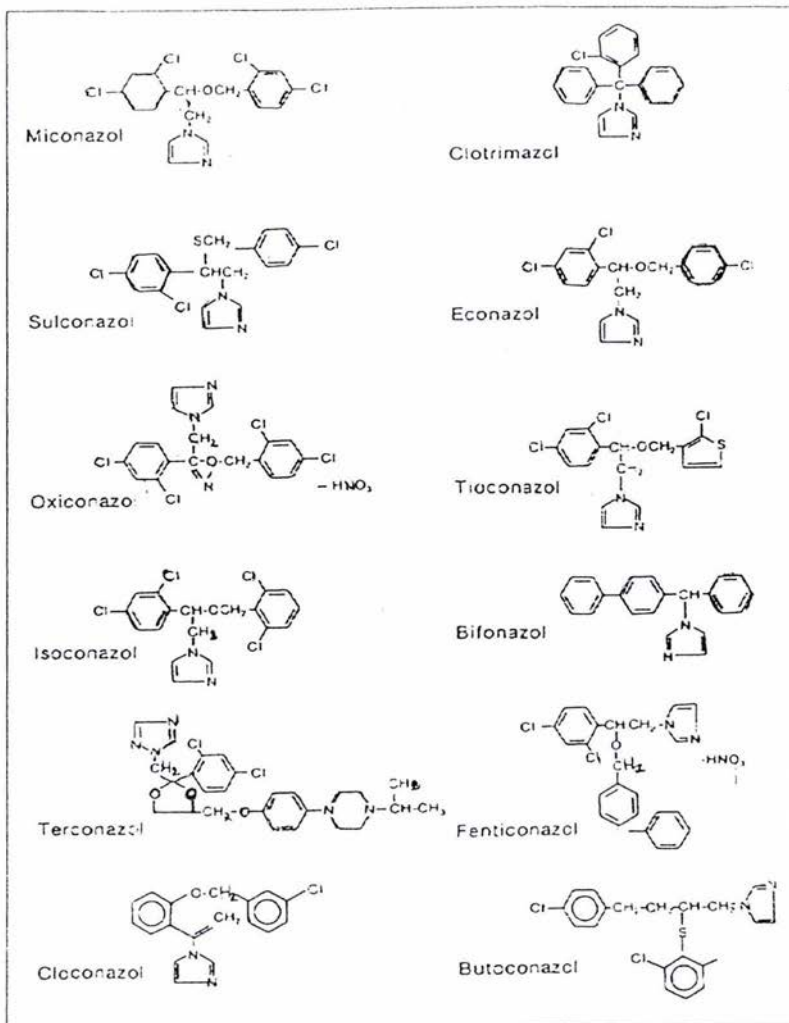


Figura 1.5 Fármacos Imidazólicos. <sup>(5)</sup>

### 1.3.2 Ketoconazol.

cis-1-acetil-4-[4-[[2-(2,4dichlorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-ilmetoxi fenil] piperazina]. La figura 1.6 muestra la estructura del ketoconazol. <sup>(8)</sup>

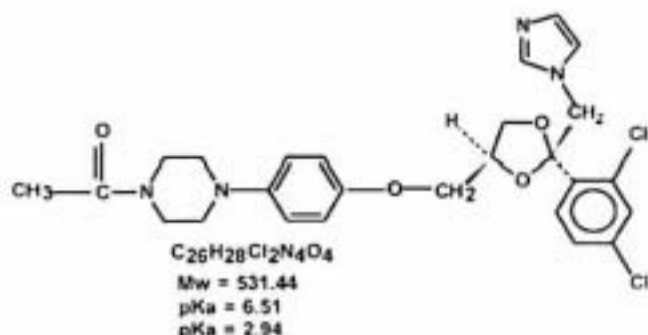


Fig. 1. Molecular structure of ketoconazole.

Figura 1.6 Estructura del Ketoconazol.<sup>(8)</sup>

El ketoconazol, es un agente imidazolico antimicótico de amplio espectro que además posee alguna actividad antibacteriana.<sup>(8)</sup>

- **Descripción:** Polvo blanco, ligeramente amarillo, libre de materia extraña.<sup>(9,10)</sup>
- **Características fisicoquímicas:** Prácticamente insoluble en agua, soluble en cloroformo, metanol, ácido clorhídrico diluido, ligeramente soluble en éter, peso molecular: 531.44, punto de fusión 148-152, pKa: 6.51 y 2.94.<sup>(9,10)</sup>
- **Detección en U.V.:** Solución ácida acuosa – 269nm ( $A^{1\%} = 26$  a); solución alcalina acuosa 287nm ( $A^{1\%} = 29$  nm); Metanol – 244 nm ( $A^{1\%} = 280$  b).<sup>(9)</sup>
- **Detección en LR, :** Picos principales (pastilla de KBr) , 1507, 1640,1240, 1258, 1200, 1221.<sup>(9)</sup>

El Ketoconazol, es un principio activo el cual puede ser dosificado, en formulaciones para administración oral, vaginal o tópica. En México, no existe la forma farmacéutica de aplicación tópica en “Talco Líquido”, solamente existen las formas farmacéuticas de aplicación tópica que son citadas en el siguiente apartado.

### 1.3.3 Formas Farmacéuticas, con ketoconazol, de aplicación tópica.

La tabla 1.8 muestra las formas farmacéuticas de aplicación tópica, comerciales, que contienen ketoconazol.



Nombre comercial.	Laboratorio.	Forma Farmacéutica.	Cantidad
NIZORAL	Janssen – Cilag	Crema	2%
NIZORAL	Janssen – Cilag	GEL	2%
NIZORAL	Janssen – Cilag	Shampoo	2%
FUNGOSINE	Sanofi – Winthrop	Crema	2%
ONOFIN – K	RAYERE	Crema	2%
CONAZOL	LIOMONT	Crema	2%
CONAZOL	LIOMONT	Talco	2%
CREMOSAN	Q. y FARMACIA	Crema	2%
REMECON	MEX – AMERICA	Crema	2%
KONADERM	ICN	Polvo	2%
MYCODIB	DIBA	Crema	2%
TERMIZOL	IVAX	Crema	2%
TINIAZOL	LIFERPAL	Crema	2%

**Tabla 1.8** Formas farmacéuticas comerciales, que contienen ketoconazol. <sup>(11 y 12)</sup>

La tabla 1.8, no muestra ninguna formulación en “Talco Líquido” u otro tipo de formulación de aplicación tópica en **suspensión**, lo que demuestra que Talco Líquido de Ketoconazol es una formulación y forma farmacéutica innovadora.

Dado que la forma farmacéutica es una suspensión, es necesario hablar de algunas características de las mismas. <sup>(11 y 12)</sup>

#### 1.4 Suspensiones.

Según la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (**FEUM** séptima edición), define una suspensión como una preparación que contiene un material insoluble, finamente dividido y dispersos en un medio o vehículo líquido. <sup>(4)</sup>

Una suspensión es un particular tipo de dispersión, o sistema disperso, en el cual la fase interna o fase en suspensión, es dispersada uniformemente por agitación, a través de la fase externa (llamada medio suspensor o vehículo). La fase interna consta de una distribución, homogénea o heterogénea, de partículas sólidas, con un rango específico de

tamaño. Cuando los sólidos tienen un tamaño menor de 1  $\mu\text{m}$  el sistema se refiere como una suspensión coloidal, cuando las partículas son mayores de 1  $\mu\text{m}$  el sistema se denomina suspensión grosera. El vehículo suspensor permite la uniformidad de la suspensión, junto con la combinación de agentes suspensores.<sup>(13)</sup>

Las partículas en suspensión, exhiben un grado mínimo de solubilidad en la fase externa y para que una partícula sólida pueda ser suspendida debe tener un tamaño entre 50 y 75  $\mu\text{m}$ .<sup>(13)</sup>

Una suspensión bien formulada debe cumplir con los siguientes criterios:

- 1) Asegurar la dispersión adecuada de las partículas en el vehículo.
- 2) Reducir al mínimo la sedimentación de las partículas dispersas.
- 3) Prevenir el apelmazamiento, en el caso que sedimenten.

#### **1.4.1 Características de las suspensiones farmacéuticas.**

Las suspensiones deben de contar con las siguientes características:

- 1) El fármaco suspendido no debe sedimentar rápidamente y al sedimentar:
  - a) El material insoluble es fácilmente resuspendido, es decir existe la separación de fases pero no apelmazamiento.
  - b) El material insoluble es mantenido en suspensión con la mínima separación de fases.

De no cumplir estas dos características se presenta el fenómeno de "apelmazamiento".

- 2) La suspensión debe de poseer una viscosidad que le permita fluir libremente del envase.
- 3) La suspensión debe ser química y físicamente estable durante la vida de anaquel del producto.
- 4) La suspensión debe tener color y olor agradable.
- 5) La suspensión debe ser resistente al ataque microbiano.

La selección del contenido óptimo para la fórmula y el agente suspensor para una suspensión es determinada por las propiedades del fármaco.<sup>(13)</sup>

### 1.4.2 Floculación y Defloculación.

Las partículas sólidas que se encuentran dispersas en una fase líquida son portadoras de cierta carga eléctrica superficial, al existir una diferencia de potencial entre la superficie de la partícula y el medio líquido se conoce como potencial zeta.<sup>(13)</sup>

Cuando el valor del potencial zeta es relativamente alto (por ejemplo 25mv) se observa que entre dos partículas existe una fuerza de repulsión mayor que una fuerza de atracción, en consecuencia estas tenderán a dispersarse y se dice que se encuentran **defloculadas**. Por el contrario si se adiciona un ión capaz de adsorberse sobre la superficie, cuya carga sea de signo opuesto a las partículas, el potencial tenderá a bajar progresivamente, hasta cierto punto donde las fuerzas de repulsión entre partículas sean mínimas, haciendo que predominen las fuerzas de atracción, así las partículas se irán acercando cada vez más hasta llegar a formar agregados laxos, llamados floculos. Entonces se dice que el sistema está **floculado**.<sup>(13)</sup>

La tabla 1.9 muestra las características de las Suspensiones Floculadas y Defloculadas.

Suspensiones Floculadas	Suspensiones Defloculadas
Forman agregados suaves o laxos.	Macroscópicamente presentan partículas individualmente aisladas.
Presentan fuerzas de atracción entre las partículas.	Presentan fuerzas entre partículas.
Sufren sedimentación rápida y uniforme.	Sufren sedimentación lenta y variable de acuerdo al tamaño de partícula.
Presentan un máximo volumen de sedimentación	Presentan un mínimo volumen de sedimentación.
Forman un sobrenadante claro.	Forman un sobrenadante turbio.
Son de fácil redispersión debido a que el sedimento es poco compacto.	Son de difícil redispersión.
No forman apelmazamiento o agregación.	Forman sedimento compacto debido a las capas superiores.

**Tabla 1.9** Características de las Suspensiones Floculadas y Defloculadas.<sup>(4)</sup>

### 1.4.3 Componentes comunes en suspensiones.

#### AGENTES HUMECTANTES

Los agentes humectantes son componentes que modifican las características hidrofóbicas de las partículas y de esta forma reducen el ángulo de contacto del sólido en el líquido, favoreciendo la dispersión del mismo y evitando la flotación del principio activo en el agente humectante. Son sustancias higroscópicas que poseen la propiedad de absorber vapor de agua de la humedad del aire hasta alcanzar un cierto grado de dilución, reducen la desecación de un producto cosmético que pueda presentar en cualquier momento de la fabricación y el uso final del consumidor.

De igual manera en la piel crea una película sobre la epidermis evitando que esta pierda agua, colabora a proporcionar un control de uso, pues reduce la velocidad a que desaparece el agua y disminuye la viscosidad.

Debe buscarse emplear el mínimo de agente humectante para producir la dispersión adecuada de las partículas, cantidades excesivas pueden producir espuma o dar un olor desagradable además de producir una defloculación de las partículas que se encuentran dispersas.<sup>(4)</sup>

#### AGENTES SUSPENSORES o VEHÍCULOS ESTRUCTURADOS

Son componentes de la formulación que evitan la sedimentación de las partículas suspendidas, es decir ajustan la viscosidad de tal manera que los flóculos o las partículas se mantengan en suspensión, con las características de que se permitan agitar y verter fácilmente. Estos agentes producen un vehículo estructurado es decir forman una red mecánica donde atrapan a las partículas formando una película resistente sin modificar la densidad de la suspensión.<sup>(4)</sup>

## AGENTES FLOCULANTES

Los agentes floculantes se agregan a las suspensiones para formar floculos o agregados de las partículas, estos floculos sedimentan rápidamente pero son fácilmente redispersados. Estos agentes pueden ser divididos en: tensoactivos, polimeros hidrofílicos y electrolitos. Se emplean en un rango de 0.0001 a 1% (m/v). Los tensoactivos se prefieren por ser compatibles con la mayoría de los excipientes. Pero el exceso produce apelmazamiento.<sup>(4)</sup>

Los tensoactivos iónicos y no iónicos pueden ser usados como agentes floculantes.

## CONSERVADORES

Son componentes de la formulación que evitan que la formulación sufra un ataque microbiológico, con la finalidad de que durante todo el tiempo de vida útil del producto no presente contaminación por hongos o bacterias.

Los problemas e inconvenientes que se presentan en la mayoría de las suspensiones, es la separación en reposo o sedimentación. El objetivo del formulador no es eliminar esta sedimentación, si no reducirla al mínimo, es decir disminuir la velocidad de sedimentación, y procurar que el sedimento se resuspenda fácilmente.<sup>(4)</sup>

### 1.4.4 Clasificación de las suspensiones farmacéuticas.

Las Suspensiones Farmacéuticas se pueden clasificar en base a su vía de administración.

- A) **Suspensión para aplicación externa (lociones tópicas):** Las suspensiones tópicas proporcionan seguridad debido a su poca toxicidad. La acción protectora y cosmética de las lociones tópicas, requiere de altas concentraciones de la fase dispersa.
- B) **Suspensiones inyectables (paraenterales):** Los sólidos contenidos en este tipo de suspensiones son usualmente entre 0.5 y 5%. Estas preparaciones estériles

son diseñadas para la administración intramuscular, intradérmica, intraarticular o subcutánea. Las suspensiones oftálmicas son preparadas de forma estéril. Los vehículos empleados son isotónicos y de composición acuosa.

- C) **Suspensiones orales:** A diferencia de las formas farmacéuticas como tabletas y cápsulas, son más efectivos farmacológicamente. Su efectividad se puede deber a diversos factores como por ejemplo su biodisponibilidad se ve aumentada debido al tamaño de partícula utilizada. Presenta una mayor facilidad de administración dependiendo de la dosis se puede administrar dos o tres veces al día. Sin embargo el mezclado no uniforme del producto final ocasiona la variación del fármaco administrado, además un polimorfismo del fármaco puede alterar la solubilidad y ocasionar el crecimiento de cristales. <sup>(13)</sup>

#### 1.4.5 Evaluación de las Suspensiones.

- a) **Velocidad de Sedimentación.** La velocidad de sedimentación es de gran importancia en la estabilidad física de las suspensiones, ya que se ha encontrado que tiene relación directa con el tipo de suspensión.

Una suspensión floculada sedimenta rápidamente formándose dos capas, la del sobrenadante claro libre de partículas y un sedimento que se redispersa fácilmente. Al contrario de la suspensión defloculada que sedimenta lentamente y forma un sedimento muy duro y difícil de redispersar ("caking").

La ecuación de Stokes, la cual se cumple solo si el movimiento hacia abajo de las partículas no es lo suficientemente rápido para generar turbulencia, se utiliza para calcular la velocidad de sedimentación y se expresa como:

$$V = \frac{2r^2(\delta_1 - \delta_2)g}{9\eta}$$

Donde:

- V : velocidad en cm/s
- r : radio de las partículas en cm.
- $\delta_1$  y  $\delta_2$  : densidades en g/cm<sup>3</sup> de la fase dispersa y del medio en dispersión, respectivamente.
- g : fuerza de gravedad (980.7 cm/s).
- $\eta$  : viscosidad del medio de suspensión expresado en poises (g/cm/s).

- b) **Volumen de Sedimentación.** El volumen de sedimentación es una medida relativa de la estabilidad de una suspensión. A mayor volumen de sedimentación mayor floculación, implica el medir el volumen original que ocupa la suspensión y el volumen del sedimento que se observa después de un tiempo arbitrariamente fijado.

El volumen de sedimentación esta definido por la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen de sedimentación} = \text{Volumen después de un tiempo arbitrario} / \text{Volumen inicial}$$

- c) **Redispersabilidad.** Una suspensión ideal no debe producir sedimento rápidamente ya que es necesario lograr una uniformidad en la dosis en el momento en que sea administrada. Si se produce sedimento, la agitación debe ser mínima para obtener una redispersión adecuada.

Una de las formas para evaluar redispersabilidad es la siguiente: La suspensión se coloca en una probeta con tapón esmerilado, la cual después de estar en reposo, por una semana aproximadamente para permitir la sedimentación se hace girar  $360^\circ$  a 20 revoluciones por minuto. El tiempo de redispersabilidad o punto final es aquel en el cual la probeta esta limpia de sedimento.

- d) **Tamaño de partícula.** En las suspensiones el tamaño de partícula está relacionado con la floculación, sedimentación, cremado y con la biodisponibilidad. La medida de tamaño de partícula en sistemas dispersos es a menudo empleada como control cualitativo fundamental de las suspensiones, ya que este parámetro es útil en la evaluación de la agregación y crecimiento de cristales.

Para determinar la distribución y el tamaño de partícula se utiliza el microscopio óptico o por la determinación de la velocidad de sedimentación.

- e) **Angulo de Contacto.** Cuando un líquido se posa sobre la superficie de un sólido y es capaz de extenderse sobre él, se dice que el líquido moja al sólido en un ángulo  $\theta$  cuyo valor tiende a cero. Por el contrario si el líquido se posa sobre el sólido y este no es capaz de extenderse sobre el, entonces se dice que el líquido no moja al sólido.

El ángulo formado entre un sólido y un líquido en la interfase líquido-sólido-gas, es conocido como ángulo de contacto ( $\theta$ ). Por convención cuando la

humectación es completa el ángulo de contacto es cero; en caso contrario, cuando esta no ocurre, el valor de  $\theta$  tiende a ir aumentando hasta  $180^\circ$  donde una forma esférica hace contacto con el sólido en un solo punto. Por lo que a medida que el ángulo de contacto sea menor la humectación será mejor.<sup>(13)</sup>

#### **1.4.6 Usos de las Suspensiones.**

Las suspensiones se usan para elaborar preparaciones líquidas de fármacos que no se pueden preparar como soluciones.

Se pueden aplicar por diferentes vías (oral, paraenteral o externa).<sup>(13)</sup>

### **1.5 TALCO LIQUIDO DE KETOCONAZOL**

El desarrollo de una formulación, no necesariamente requiere de principios activos nuevos, puede ser que se tome una formulación y se optimice o que se cambie la vía de administración, "Talco Líquido de Ketoconazol" es una forma farmacéutica de aplicación tópica con características antimicóticas y refrescantes.

#### **1.5.1 Talco o Polvo Líquido, para los pies, con Ketoconazol.**

En México encontramos productos en forma de "Talco Líquido", que es una innovación cosmética, bajo los nombres de "Avental", "Bate and Body Works" y "Davidoff Cool Water Aquatics" los cuales prometen refrescar, suavizar y revitalizar la piel, además de contar con fragancias sumamente agradables.

Usando este concepto se desarrolló el "Talco Líquido de Ketoconazol" el cual ofrece las mismas ventajas cosméticas, ésta formulación tiene un efecto inicial refrescante cuando se aplica y cuando se seca, dejando un polvo absorbente sobre los pies. La interacción de la fórmula sobre la piel hidratada lo convierte en una loción para después del baño, con un agradable olor a mentol. Ahora bien, el principio activo ketoconazol, le confiere, a "Talco Líquido", la característica de ser un medicamento antimicótico.



En comparación con otras formas farmacéuticas. Respecto al talco o polvo, ofrece un ahorro de producto, debido a que al espolvorear el talco sobre la planta del pie solo se adhiere algo de producto, lo demás se tira, lo cual repercute en el bolsillo del consumidor y con respecto a formulaciones semisólidas tales como geles, pomadas o cremas, "Talco Líquido" es una formulación no grasosa y de secado rápido, además de que el proceso de fabricación es sencillo no lleva tantos ingredientes lo cual se reflejará en un precio más económico, para el público, respecto a sus competidores en el mercado.

Talco Líquido de Ketoconazol, se aplica cada 24 horas, se recomienda que el tratamiento comience antes de la hora de dormir, de esta forma se siente un efecto refrescante y una sensación de descanso, además de que el principio activo y el talco estarán más tiempo en contacto con la zona afectada, debido a que no hay roce de calzado o de calcetín, por lo que el efecto antimicótico será más eficiente.

Como características físicas principales, "Talco Líquido de Ketoconazol", es una forma farmacéutica antimicótica, en suspensión, fácilmente resuspendible, de aplicación tópica, color blanco y olor a mentol.

#### **1.5.1.1 Mecanismo de Acción.**

El **mecanismo de acción del agente antimicótico**. Actúa inhibiendo la esterol 14- $\alpha$ -desmetilaza, éste es un sistema de enzimas, en los hongos, que depende del citocromo P<sub>450</sub> de microsomas. De esta manera se impide la síntesis del ergosterol en la membrana citoplasmática y permite la acumulación de 14- $\alpha$ -metilesteroles. Estos metilesteroles pueden alterar el empaquetamiento de las cadenas acil de fosfolípidos y, con ello, alterar las funciones de algunos sistemas enzimáticos como la ATPasa y enzimas de sistema de transporte electrónico, y de este modo impide la proliferación de hongos.<sup>(5)</sup>

El **mecanismo de acción contra bacterias**. Gracias a su semejanza estructural con penicilinas, cefalosporinas, cicloserina, bancomiscina, bacitracina, inhibe la síntesis de la pared bacteriana. Este mecanismo la siguen otros antimicóticos imidazólicos, tales como; miconazol y clotrimazol.<sup>(5)</sup>

### 1.5.1.2 Farmacocinética.

Su **aplicación tópica** no genera concentraciones plasmáticas del principio activo, por lo que se considera no absorbible, el ketoconazol se adhiere a la piel y penetra a la **capa cornea**, de donde se desprende posteriormente con la descamación de las células cornificadas <sup>(11 y 12)</sup>

### 1.5.1.3 Farmacodinamia.

“Talco Líquido de Ketoconazol” es efectivo contra dermatofitos de los géneros *Trichophyton sp*, *Epidermophyton sp*, *Microsporum sp*, etc. No existe hasta el momento evidencia de resistencias micóticas.

“Talco Líquido de Ketoconazol” ocasiona cambios en la pared celular y deterioros intracelulares, así como alteraciones en la síntesis de ergosterol, lo cual conduce a un efecto fungistático y fungicida. <sup>(11 y 72)</sup>

### 1.5.1.4 Contraindicaciones.

Puede que exista hipersensibilidad al principio activo, pero el polvo que contiene “Talco Líquido de Ketoconazol”, reduce el riesgo de hipersensibilidad y alergias. <sup>(11 y 12)</sup>

### 1.5.1.5 Reacciones Secundarias y Adversas.

Se puede presentar sensación de irritación local, sin que ello implique efectos de sensibilización. <sup>(11 y 12)</sup>

### 1.5.1.6 Precauciones.

Debe evitarse la aplicación de Talco Líquido de Ketoconazol sobre las mucosas o la piel lacerada. Evitar el contacto con los ojos. <sup>(11 y 12)</sup>

#### **1.5.1.7 Vía de Administración.**

“Talco Líquido de Ketoconazol” al 2%, se aplica en tratamiento contra la tiña de pies, se aplica una vez al día, se recomienda que sea por la noche, después de un lavado, con agua y jabón, y un secado total de las zonas afectadas. El tratamiento debe continuarse unos días más, a pesar de haber desaparecido los síntomas.

El diagnóstico debe ser reconsiderado si no se nota mejoría clínica después de cuatro semanas de tratamiento.

La formulación se obtuvo por medio de un Diseño de Experimentos, el cual se muestra en el apartado 1.6.1 posterior al apartado para un Desarrollo Farmacéutico.<sup>(11) y (12)</sup>

#### **1.6 Desarrollo Farmacéutico.**

El desarrollo farmacéutico es el conjunto de actividades que se realizan dentro del conocimiento de la ciencia, la tecnología y la ética profesional, destinado a obtener el máximo aprovechamiento de un medicamento.

El desarrollo cuenta de varias etapas, mencionadas a continuación:

##### **A) Preformulación:**

- a. Es necesario hacer una revisión bibliográfica, con lo que podemos conocer las características físicas, químicas, farmacológicas y toxicológicas del principio activo y de los excipientes por utilizar.
- b. La siguiente etapa está conformada por los estudios de preformulación, cuya finalidad es comprobar las características fisicoquímicas del fármaco. También se realizan pruebas de degradación y pruebas de compatibilidad del fármaco con los excipientes, así tendremos la información necesaria para llevar a cabo la formulación más adecuada y el proceso de manufactura más viable.

La preformulación es un proceso que involucra la aplicación de parámetros físicos, químicos y biológicos que permitan analizar las propiedades del principio activo, así como los componentes a utilizar, con lo que se detectan posibles incompatibilidades que se puedan presentar al desarrollar el producto.

La importancia de los estudios de preformulación radica en saber cual es la forma farmacéutica más conveniente para desarrollarse, además de conocer posibles problemas y soluciones que se presenten durante el desarrollo.

#### **B) Formulación.**

- En esta parte se debe llevar a cabo la selección de los excipientes, esta selección se debe realizar tomando en consideración los estudios de preformulación.
- Documentar el proceso de manufactura.
- Como primer paso se debe obtener una formulación tentativa para el desarrollo del producto.

#### **C) Optimización.**

- El segundo paso es optimizar la formulación utilizando la herramienta llamada Diseño Factorial.

#### **D) Evaluación.**

En esta etapa, observamos si el producto cumple con las características y la finalidad para el cual fue diseñado.

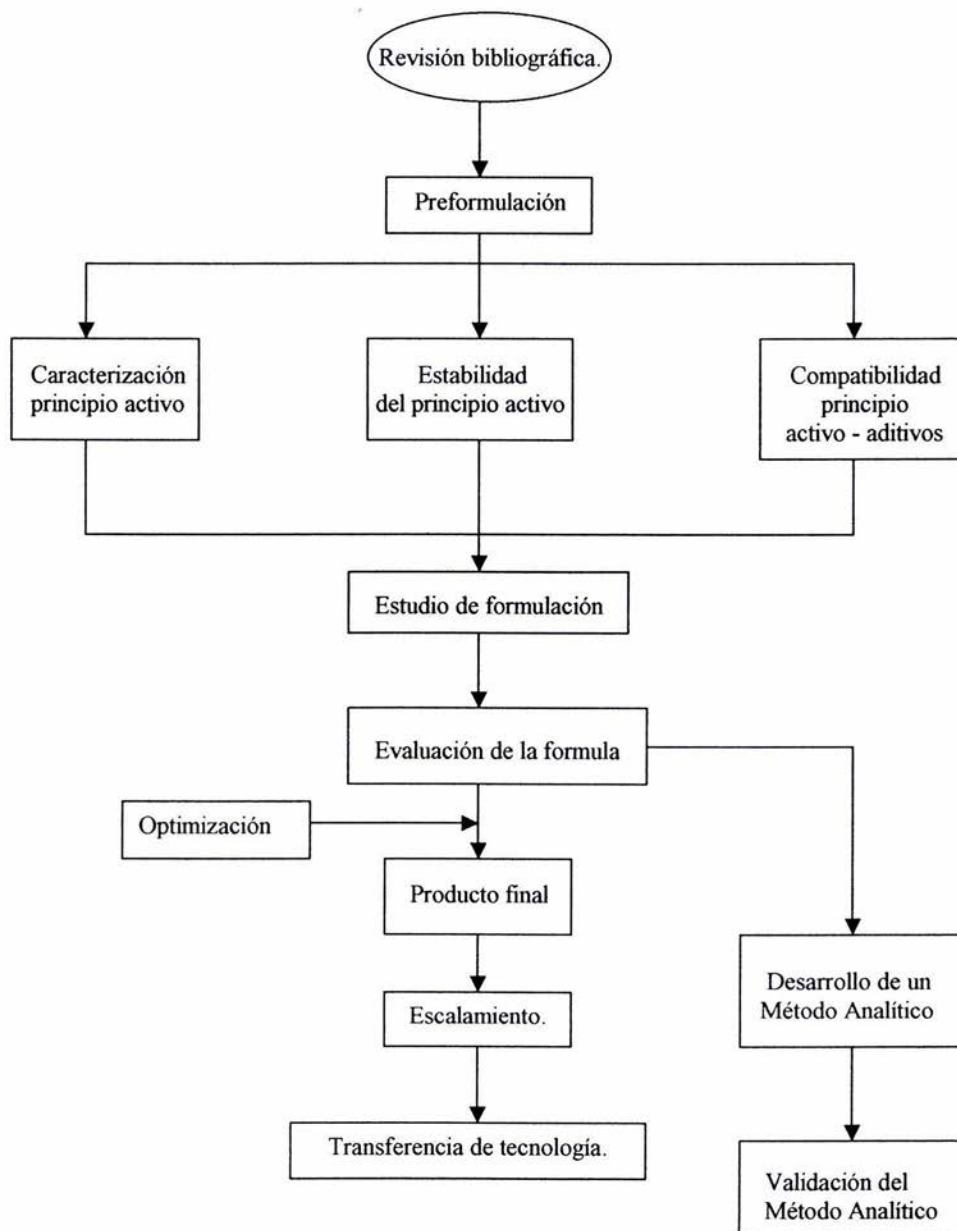
Las pruebas que se llevan a cabo se apoyan en gran parte en el Método Analítico y procesos de validación.

Es necesario contar con estudios como evaluación de excipientes, estudios de cinética de descomposición, evaluación de la estabilidad del medicamento, establecimiento de las condiciones de almacenaje y uso, así como la fecha de caducidad del producto.

#### Estabilidad.

- El objetivo de realizar los estudios de estabilidad es el de contar con la evidencia documentada de las características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas del medicamento.
- Los factores que determinarán los cambios serán temperatura, humedad y luz. Por esta razón y tomando en cuenta estos factores es necesario establecer las condiciones de almacenamiento más adecuadas y el periodo de caducidad.
- En los estudios de estabilidad es importante considerar la durabilidad del principio activo, excipientes y producto final, este tiene que ser capaz de soportar las condiciones a las cuales podría estar expuesto tales como: calor, frío, luz, humedad, condiciones de transporte y almacenamiento.
- La NOM 073-SSA-1993 establece dos tipos de estudios a realizar: en condiciones aceleradas, para conocer su periodo de vida en las condiciones de almacenaje, y exposición a condiciones naturales, que se realizan en un tiempo más prolongado el cual puede ser de dos a tres años, confirmando los ensayos anteriores.<sup>(14 y 15)</sup>

El siguiente diagrama 1.1 muestra las diferentes etapas en un desarrollo farmacéutico y la relación con el desarrollo analítico.



1.1 Diagrama de un Desarrollo Farmacéutico y su relación con el Desarrollo Analítico. <sup>(16)</sup>

### 1.6.1 Diseño de Experimentos.

Un diseño de experimentos involucra una serie de pruebas en las que se inducen cambios deliberados en las variables de entrada dentro de un proceso o sistema, para poder observar las causas de los cambios en las respuestas o variables de salida. <sup>(17)</sup> Esta herramienta matemática, fue utilizada con el fin de encontrar la cantidad aproximadamente exacta de algunos excipientes, los que darán un resultado que influye en los factores viscosidad del producto "Talco Líquido de Ketoconazol".

Los métodos de diseño experimental tienen aplicación en un gran número de disciplinas optimizando el trabajo de experimentación; se emplea en el desarrollo de nuevos procesos y para mejorar el rendimiento de los ya implementados; por ejemplo, algunas aplicaciones en el diseño técnico, son al utilizar los resultados para evaluar materiales alternos, para seleccionar parámetros o condiciones de trabajo, mínimas o máximas. Así obtenemos mayor confiabilidad, mejor funcionamiento en el campo de trabajo, menores costos y desarrollo del producto. <sup>(17)</sup>

Para que un experimento se realice de forma eficiente se deben emplear métodos científicos en su planeación y, con el objetivo de producir conclusiones válidas y objetivas, se requiere de un enfoque estadístico el cual es otro aspecto dentro del planeamiento experimental, que debe estar estrechamente vinculado dentro de todo el proceso. En un diseño de experimentos se debe considerar <sup>(15 y 16)</sup>:

- 1.- Obtención de réplicas, lo que permite estimar el error experimental y ser más preciso al prever los efectos.
- 2.- Aleatorización, proceso que elimina los factores externos que pudieran afectar a las variables independientes.
- 3.- Análisis por bloques, paso que incrementa la precisión del experimento al manejar "paquetes" o porciones de material experimental más homogéneas en comparación con el total.

Para enfrentar un problema usando un Diseño de Experimentos, se siguen los siguientes pasos:

- ✓ Comprender y plantear dicho problema.
- ✓ Elegir factores, niveles y variables que más influyen.
- ✓ Seleccionar la variable de respuesta más adecuada que ofrezca la información deseada y sea capaz de medirse.
- ✓ Elegir el diseño experimental considerando el tamaño de muestra y el orden de los ensayos tratando de eliminar los factores que pudieran intervenir y que no son controlables.
- ✓ Realizar el experimento siguiendo las condiciones establecidas.
- ✓ Analizar los datos con métodos estadísticos obteniendo el error de los resultados.
- ✓ Concluir con base a los resultados y hacer recomendaciones prácticas y útiles para trabajos futuros.

El Diseño Factorial permite descubrir las interacciones directas entre variables, ya que se investigan todas las combinaciones posibles de los niveles de los factores en cada ensayo o réplica completa.

### 1.6.2 Diseño Factorial.

En general el Diseño Factorial es llamado diseño  $2^k$ , ya que el diseño factorial incluye un mínimo de **2 niveles** y **k número de factores**. Los objetivos para tener dos niveles, como mínimo<sup>(17)</sup>:

1. Se puede asumir, con conocimiento previo, que ciertas interacciones no existen.
2. En que momento se espera que los efectos, a excepción de algunos de los factores bajo estudio, pueden ser despreciables.
3. En que momento una secuencia de experimentos es corrida, y el sobrante ambiguo da como resultado una etapa de experimentación la cual puede ser resuelta por medio de un grupo de subsecuentes experimentos.
4. En que momento ciertos factores pueden ser estudiados simultáneamente con factores cuya influencia sólo se describe con los efectos.



## 1.7 FORMULACION DEL TALCO LIQUIDO DE KETOCONAZOL

Talco liquido de Ketoconazol es una suspensión, como tal, consta de ciertos componentes en común con otras suspensiones. A continuación presento los componentes utilizados y algunas de sus características.

### 1.7.1 Excipientes.

- **Propilenglicol.** Miscible con acetona, cloroformo, etanol, glicerina y agua. Es usado como solvente, conservador en formulaciones paraenterales y no paraenterales, disuelve gran variedad de materiales: vitaminas A y D, sulfas, barbitúricos y anestésicos locales, incompatible con oxidantes. Evita la formación de costras en producto terminado y acondicionado, incrementa la humectación y provee consistencia a la formulación.<sup>(18)</sup>
- **Alcohol Cetosteárico.** Emoliente, viscosante y emulsificante, usado en formas farmacéuticas tópicas, es incompatible con oxidantes, es soluble en alcohol e insoluble en agua.<sup>(18)</sup>
- **Carboximetilcelulosa.** Es espesante, agente estabilizante y gelificante, soluble en agua.<sup>(18 y 19)</sup>
- **Vitamina E** Se usa como antioxidante, es de apariencia viscosa y de color ambar, soluble en acetona, éter, etanol y aceites vegetales.<sup>(18)</sup>
- **Mentol** Cristales blancos con olor y sabor refrescante, soluble en alcohol y aceites ligeros, usado en perfumería, gomas de mascar y productos de aplicación tópica.<sup>(18)</sup>
- **Etanol** Usado como vehículo y disolvente.<sup>(18)</sup>
- **Conservadores tipo parabeno.**<sup>(19)</sup> Se usan dos tipos de parabeno, el metilparabeno y el propilparabeno, el uso de estos parabeno en conjunto disminuye la probabilidad de que exista desarrollo bacteriano.
- **Almidón de maíz.** Es usado en preparaciones tópicas, como polvo absorbente usado como recubrimiento protector en pomadas para la aplicación sobre la piel.

## 1.8 DESARROLLO ANALÍTICO.

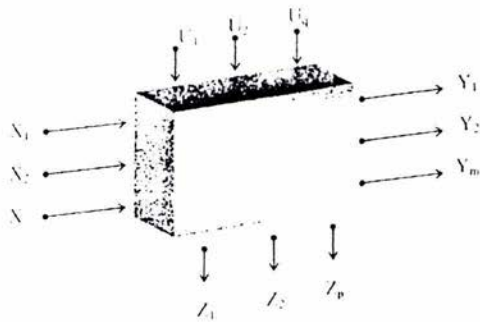
El **desarrollo y validación de métodos analíticos** es parte fundamental de una nueva formulación y de la técnica de análisis de **control de calidad** para una forma farmacéutica, ya que es durante esta secuencia de pruebas y análisis, en donde el químico se da cuenta, si el estudio que está siendo evaluado sistemáticamente, cumple con los propósitos para el cual fue creado.

A continuación se presentan; definición, requisitos y pasos para validación de un método analítico.

### 1.8.1 Procedimiento Analítico.

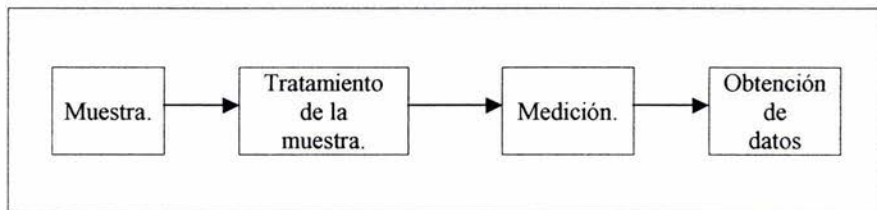
Un procedimiento analítico puede ser explicado con un diagrama de **“caja negra”** representando una situación en la que nada se conoce sobre el proceso y/o componentes físicos, químicos, mecánicos o eléctricos involucrados, y con el que es posible transformar la muestra de composición desconocida en una de composición conocida.<sup>(20)</sup>

La figura 1.8, muestra **variables de entrada** “ $X_n$ ”, que representan concentraciones, cantidades e identidades presentes en la muestra, y las variables “ $Y_n$ ” representan mediciones o **variables de salida**. La generación de los resultados analíticos depende de la relación entre las variables de entrada y de salida. Las **variables controlables**, representadas por la letra “U”, influyen en la medición y por lo tanto en las variables de entrada y salida. Las **variables no controlables**, representadas con la letra “Z”, generalmente se desconocen, pero están presentes, por ejemplo, cambios en el voltaje de la luz, temperatura ambiente, etc.<sup>(20,21 y 22)</sup>



**Figura 1.7** Esquema de caja negra. <sup>(21 y 22)</sup>

La Figura 1.8 Esquematiza el procedimiento analítico para el tratamiento de la muestra. <sup>(21 y 22)</sup>



**Figura 1.8** Proceso Analítico de identificación de la muestra. <sup>(22)</sup>

La identificación de la muestra es posible cuando la relación entre variables de entrada y de salida es conocida y la señal no se oculta con el ruido.

Una vez conocido el diagrama para un procedimiento analítico, se debe tener un orden para lograr desarrollar el método analítico.

### 1.8.2 Desarrollo del Método Analítico. <sup>(21 y 22)</sup>

Para el desarrollo de un método analítico se deben seguir los siguientes pasos:

- Definir el método analítico.
  - Muestra: analito, matriz, propiedades.
  - Técnicas analíticas: U.V., I.R, H.P.L.C., etc.
- Información bibliográfica. Propiedades físicas y químicas tanto del principio activo como de cada componente.
- Definir variables:
  - a) Controlables. (pH, concentración, cantidad, etc.).
  - b) De respuesta (vire, recobro, linealidad).
- Establecer las condiciones de trabajo por medio de técnicas estadísticas. (algoritmo de Yates o método de contrastes)
- Experimentación.
- Optimización.
- Validación. (según guías: FDA, ICH, SSA)

La propuesta para el método analítico, es la extracción del principio activo por medio de una placa preparativa, para su posterior cuantificación por el método de espectrofotometría por U.V. Una vez desarrollado el método, podemos optimizar el análisis, utilizando un diseño de experimentos. <sup>(20,21 y 22)</sup>

### 1.8.3 Validación.

Una parte integral del desarrollo analítico es la **validación** del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación, generalmente incluye una evaluación de: precisión, exactitud, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y rango. Las características consideradas a ejecutar en la validación son: Precisión, exactitud, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad y rango. <sup>(13 y 20)</sup>

La validación de un proceso, se refiere al establecimiento de evidencia documentada, la cual provee un alto grado de aseguramiento, de que, un proceso, tiene una producción consistente de acuerdo a especificaciones de calidad.

La **validación de un método analítico** es el proceso por el cual se establece, por medio de estudios en laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones del método analítico.

La Industria Farmacéutica está particularmente interesada en la validación de métodos analíticos debido al gran incremento de nuevos productos relacionados con el área de la salud y que requieren métodos de análisis apropiados.

La validación es una actividad para “organizar”, por lo que se necesita hacer un Protocolo de Validación.

#### **1.8.3.1 Protocolo de Validación.**

Un protocolo de validación es un plan escrito que establece cómo se va a llevar a cabo la validación, incluyendo parámetros de ensayo, características del producto, equipos de producción y criterios de evaluación<sup>(13)</sup>.

Debe de contener :

- 1.- Control de materias primas. Deberán aparecer en forma detallada las especificaciones de la muestra de ensayo, la preparación y estabilidad de las disoluciones, diluciones, pH y temperatura.
- 2.- Material de referencia. Se utilizará para calibración del sistema o como patrón de comparación en las determinaciones del analito. Las características del material de referencia aparecerán como anexo al protocolo de validación.
- 3.- Verificación, calibración y control del equipo. Por lo general el usuario desarrolla su propio procedimiento para la comprobación del buen funcionamiento del instrumento o seguir las recomendaciones del fabricante.
- 4.- Entrenamiento del personal. Este personal debe ser exclusivo para realizar ensayos analíticos y su entrenamiento debe estar documentado.
- 5.- Procedimiento normalizado de operación del método. Refleja el procedimiento exacto de la ejecución del método analítico y estará anexado al protocolo de validación.

#### 1.8.4 Condiciones para Validar un Método Analítico.

Se deben tomar en cuenta ciertos aspectos para la validación de un método analítico, tales como<sup>(20,21 y 22)</sup>:

- ✓ Los instrumentos deben estar calibrados, antes de empezar con las actividades de la validación.
- ✓ Contar con sustancias de referencia caracterizadas correctamente.
- ✓ El personal debe estar capacitado.

La validación se realiza siguiendo un orden, validando así sistema, método y precisión intermedia.

#### 1.8.5 Etapas de la Validación de Métodos Analíticos.

**1.- Sistema:** Se trabaja con sustancias de referencia. Ya que se debe contar con una sustancia caracterizada, por la razón de que a partir del sistema se debe obtener una respuesta específica, la cual debemos conocer, para poder tener un punto de comparación o referencia.

**2.- Método:** Se trabaja con placebos y sustancias de referencia. Trabajando con placebos, podemos obtener la respuesta que registra el equipo a partir de los excipientes, sin principio activo. Ahora bien, el placebo cargado, es placebo mas la sustancia de referencia, trabajando con un placebo cargado, podemos asegurar que la cantidad de principio activo, con la que vamos a trabajar, es un 100%, y no un porcentaje mayor o menor. Dependiendo del parámetro por validar, se requiere; sustancia de referencia, placebo o placebo cargado.

**3.- Precisión intermedia :** El método se prueba con producto terminado. La extensión de la precisión intermedia, puede ser establecida dependiendo de las circunstancias bajo las condiciones deseadas del procedimiento. El analista puede establecer los efectos de eventos sobre el procedimiento (día, analista, equipo).<sup>(20,21 y 22)</sup>

Se necesita conocer los parámetros que se van a validar y cómo se van a validar, dependiendo del método utilizado.

### 1.8.6 Parámetros por Validar.

Diferentes métodos requieren diferentes proyectos de validación. En la USP, se consideran cuatro tipos de categorías<sup>(19)</sup>.

- Categoría I – Métodos analíticos, indicadores de control de calidad, para la cuantificación de los principales componentes de un medicamento o de principios activos (incluyendo conservadores), en productos terminados.
- Categoría II – Métodos indicadores de estabilidad: Se utilizan para la determinación de impurezas en medicamentos o productos de degradación, en productos farmacéuticos terminados, incluyendo ensayos cuantitativos y pruebas límite.
- Categoría III – Métodos indicadores de biodisponibilidad: Para la determinación de características de comportamiento del producto (pruebas de disolución, liberación de fármacos, etc.)
- Categoría IV – Pruebas de identificación.

La tabla 1.10 muestra los parámetros por validar para cada categoría.

Características analíticas por ejecutar	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Cuantitativa	Prueba límite		
Exactitud	✓	✓	*	*	✗
Precisión	✓	✓	✗	✓	✗
Especificidad	✓	✓	✓	*	✓
Límite de detección	✗	✗	✓	*	✗
Límite de cuantificación	✗	✓	✗	*	✗
Linealidad	✓	✓	✗	*	✗
Rango	✓	✓	*	*	✗

\* Tal vez se requiere, dependiendo de la naturaleza de pruebas específicas.

**Tabla 1.10** Parámetros para la Validación de Métodos Analíticos. <sup>(19)</sup>

A continuación se definen los parámetros que hay que validar, según las categorías mencionadas en la Tabla 1.10, estos parámetros son: exactitud, precisión, especificidad, linealidad y rango, es decir se evalúan los parámetros señalados como Categoría I.

### 1.8.6.1 Parámetros.

El método analítico se desarrolló como indicador de control de calidad y para cuantificar el principio activo, por lo que los parámetros por validar son de Categoría I.

La tabla 1.11 muestra parámetros por evaluar y el criterio de evaluación. <sup>(23 y 24)</sup>

Parámetro	CV	r	r <sup>2</sup>	m	b
Linealidad del sistema.	≤ 1.5%	≥ 0.99	≥ 0.98		
Linealidad del método. (cantidad adicionada vs cantidad recuperada)			≥ 0.98	1	0
Precisión del sistema.	≤ 1.5%				
Reproducibilidad	≤ 3.0%				
Repetibilidad.	< 2%				

Tabla 1.11 Parámetros a evaluar y criterio de aceptación. <sup>(23)</sup>

### 1.8.6.1.2 ESPECIFICIDAD.

Es la habilidad de un método analítico para obtener una respuesta, debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra.

La evaluación de la especificidad se puede llevar a cabo durante la evaluación de las **pruebas de identificación, determinación de impurezas y valoración**. Los procedimientos usados para demostrar la especificidad dependerán del objetivo del método analítico.

No siempre es posible demostrar que un procedimiento analítico es específico para un analito en particular. En este caso se usan dos o más procedimientos analíticos.



### **1) Pruebas de Identificación.**

Las pruebas de identificación deben discriminar entre componentes de estructura relacionada, que puedan estar presentes. La discriminación, puede ser confirmado obteniendo resultados positivos (quizá en comparación con un material de referencia conocido) para muestras que contengan el analito, con muestras de resultado negativo que no contienen el analito. La prueba de identificación puede aplicarse a materiales estructuralmente similares o para analitos muy relacionados, confirmando que no se obtiene una respuesta positiva.<sup>(23 y 24)</sup>

### **2) Valoración.**

Para procedimientos cromatográficos, los cromatogramas pueden ser usados para demostrar la especificidad y cada componente puede ser etiquetado.

En casos donde no se use una valoración específica, se usan otras técnicas como soporte, para demostrar la especificidad.

### **3) Pruebas de impurezas.**

#### **a) Impurezas disponibles.**

La valoración, involucra la discriminación del analito, en presencia de impurezas y/o excipientes.

Para las pruebas de impurezas, la discriminación se establece con fármaco puro o producto con apropiados niveles de impurezas demostrando la separación individual de estas impurezas y/o para otros componentes dentro de la matriz de muestra.

#### **b) Impurezas no disponibles.**

Si las impurezas o los productos de degradación no están disponibles, la especificidad se demuestra comparando los resultados de muestras que contienen impurezas o productos de degradación bien caracterizados. Por

ejemplo: el método farmacopeico y de otros métodos analíticos, donde las muestras se almacenan en condiciones de estrés, para su **degradación**: luz, calor, condiciones de acidez, condiciones de basicidad y oxidación.

Las guías del CIPAM, recomiendan los siguientes métodos para la degradación:

- Sustancia de interés, placebo y las muestras de producto, a una temperatura de 70°C - 120 °C o a 20°C por debajo del punto de fusión de la sustancia de interés, de dos a cuatro semanas.
- Sustancia de interés, placebo y las muestras de producto a luz U.V., fluorescencia y/o humedad.
- Si es necesario hacer soluciones de la sustancia de interés, ajustando el pH de 1-2 y/o de 10-12 y colocarlas de 60 – 80°C de 2 – 4 semanas.
- Si se trata de formas farmacéuticas líquidas o semisólidas pueden degradarse por oxidación (con peróxido de hidrógeno) y permanecer de dos a cuatro semanas a temperatura ambiente y/o por hidrólisis (pH 1-2 y 10-12) colocar las muestras a 60 – 80°C de 2 – 4 semanas.

Nota: Verificar que los productos de degradación y/o sustancias relacionadas no interfieran con la cuantificación de la sustancia de interés, utilizando el método desarrollado. Ajustar las condiciones para obtener la máxima resolución.

#### 1.8.6.1.3 LINEALIDAD.

La relación lineal se puede evaluar a través del rango del procedimiento analítico.

Se puede demostrar directamente, usando el fármaco, por disolución de una solución stock, utilizando **cuando menos 5 diluciones** y hacer el análisis cuando menos por **duplicado (linealidad del sistema)**.

La linealidad puede ser evaluada por la inspección visual de señales en función de la concentración del analito. Si existe una relación lineal, los resultados se analizan estadísticamente, por ejemplo, aplicando una regresión lineal. <sup>(23 y 24)</sup>

#### 1.8.6.1.4 RANGO.

Normalmente deriva de los estudios de linealidad y depende de la aplicación del procedimiento. Se establece confirmando que el procedimiento analítico **cumple** con la **linealidad, exactitud y precisión**, cuando se aplican muestras que contienen cierta cantidad de analito, en niveles superior e inferior, dentro del rango de especificidad del procedimiento analítico. <sup>(23 y 24)</sup>

Se considera:

- ✓ Para la valoración de fármaco o producto terminado: normalmente de 80 a 120 por ciento para pruebas de concentración (3 diferentes cantidades de placebo cargado, cada uno de manera independiente y por triplicado). (**linealidad del método**).

#### 1.8.6.1.5 EXACTITUD.

Se refiere a la cercanía del valor experimental y un valor de referencia se puede establecer a través de diferentes procedimientos. <sup>(23 y 24)</sup>

##### 1) Valoración.

*a) Fármaco como sustancia.*

- Aplicación del método analítico a un analito de pureza conocida (ej. Material de referencia).
- Comparación de resultados del procedimiento analítico propuesto, con un procedimiento bien caracterizado

*b) Producto terminado.*

- Aplicación del método analítico a mezclas sintéticas del producto terminado, componentes para los cuales se conoce la cantidad de fármaco, la cual se añade (ver tabla).
- Para casos donde es imposible obtener muestras de los componentes del producto, es aceptable agregar una cantidad de fármaco, o comparar resultados con un método bien caracterizado, para el cual la exactitud está bien definida.
- La exactitud puede ser deducida una vez que la precisión, linealidad y especificidad han sido establecidas.

**2) Cuantificación de Impurezas.**

La exactitud es determinada en muestras (fármaco sustancia / producto terminado) comparadas con cantidades de impurezas conocidas.

Donde es imposible obtener muestras de las impurezas y/o degradación de productos, es aceptable comparar resultados obtenidos con un procedimiento independiente. El factor de respuesta del fármaco sustancia puede ser usado.

Esto aclara como el total de impurezas son determinadas como en los casos; peso / peso o área por ciento, en todos los casos respecto al analito.

**\* Recomendaciones.**

La exactitud puede tener un mínimo de 9 determinaciones con un mínimo de tres niveles de concentración cubriendo un rango específico. (tres procedimientos, tres réplicas).

La exactitud puede ser reportada como porcentaje de recobro por valoración de cantidad agregada de analito, o como la diferencia, entre el valor aceptado y los intervalos de confianza.

La tabla 1.12, muestra los límites del porcentaje de recobro y de Coeficiente de Variación (C.V) para algunos métodos usados para la cuantificación de fármacos en la Industria Farmacéutica.

Método	Porcentaje de recobro	C.V
Cromatográficos	98 – 102 %	≤ 2%
Valorimétricos	98 – 102 %	≤ 2%
Químicos y espectrofotométricos	97 – 103 %	≤ 3%
Microbiológicos	95 – 105 %	≤ 5%

Nota : Para suspensiones y semisólidos, se acepta una ampliación del 1%, para el porcentaje de recobro, y el coeficiente de variación ≤ 3%.

**Tabla 1.12** Límites de porcentaje de recobro y coeficiente de variación.

#### 1.8.6.1.6 PRECISION.

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea del producto, se aplica por **sextuplicado** correspondiente al **100%** de la Linealidad del Sistema (precisión del sistema). Usualmente se expresa en términos de desviación estándar o del coeficiente de variación. <sup>(23 y 24)</sup>

Se determina por el análisis, por sextuplicado de una misma solución estándar, correspondiente al 100%, establecido en la Linealidad del Sistema.

La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico, bajo condiciones normales de operación.

#### 1) Repetibilidad.

La repetibilidad, se refiere al grado de concordancia entre N resultados de N experimentos, hechos por un mismo analista en un solo laboratorio. Dependiendo de los

limites establecidos para la comparación de resultados se dictamina si el experimento es repetible o no.

- Determinada por un mínimo de nueve evaluaciones incluyendo el rango específico (tres concentraciones / tres réplicas).
- También por un mínimo de 6 réplicas al 100% de la prueba de concentración.

## **2) Precisión intermedia.**

La precisión intermedia, se refiere a los parámetros, que son elegidos por el analista, para ser evaluados dentro de los estudios de reproducibilidad.

La extensión de la precisión intermedia, puede ser establecida dependiendo de las circunstancias bajo las condiciones deseadas del procedimiento. El analista puede establecer los efectos de eventos sobre el procedimiento (día, analista, equipo). No es necesariamente considerado para estudiar estos efectos individuales.

## **3) Reproducibilidad.**

La reproducibilidad, se refiere al grado de concordancia entre N resultados de un analista o laboratorio, con los N resultados de otro analista o/y otro laboratorio.

Dependiendo de los límites establecidos para la comparación de resultados se dictamina si el experimento es reproducible o no.

Se determina por pruebas Interlaboratorio. La reproducibilidad es considerada para la estandarización del procedimiento analítico, inclusión en farmacopeas.

## **\* Recomendaciones.**

La desviación estándar, el coeficiente de variación y el intervalo de confianza se reporta para el tipo de precisión reportada

## CAPITULO 2 METODOLOGIA

### 2. Desarrollo Farmacéutico.

#### 2.1A Preformulación.

- ✓ Caracterización del principio activo.

<b>Característica.</b>	<b>Especificación.</b>	<b>Cumple.</b>	<b>No cumple.</b>
Descripción física.	Polvo blanco ligeramente amarillo		
Punto de fusión.	148-152°C		
Solubilidad en propilenglicol.	Soluble		

- ✓ Degradación del principio activo.

El principio activo debe someterse a diferentes condiciones, en este caso: acidez, basicidad y oxidación con el fin de conocer los productos de degradación que pudieran intervenir en la formulación.

Para encontrar las especies degradadas se utiliza la técnica de cromatografía en capa delgada cuya fase móvil y soluciones por aplicar son:

**Fase móvil:** n-hexano, acetato de etilo, metanol, agua, ácido acético glacial  
(42:40:15:2:1)

Referencia para la cromatografía en capa delgada.

- Se disuelven 30mg de ketoconazol en 3mL de cloroformo (referencia).

Preparación de las especies degradadas:

- Se prepararán las siguientes soluciones, dejándolas reposar durante una semana en un vial tapado, color ambar y protegidas de la luz.
  - o 30 mg de ketoconazol en 1 mL de NaOH 7N.
  - o 30 mg de ketoconazol en 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 7N.
  - o 30 mg de ketoconazol en 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%.

Para el ensayo de cromatografía en capa delgada se aplica, de izquierda a derecha en una cromatoplaque; A) la referencia, preparada el mismo día, B) solución ketoconazol en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, C) solución de ketoconazol en NaOH y D) solución de ketoconazol en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tomando como criterio el Rf.

**Rf** = distancia recorrida por la muestra / distancia recorrida por la fase móvil.

- ✓ Compatibilidad de ketoconazol con propilenglicol.

El principio activo debe ser soluble en alguno de los excipientes sin que se presente cristalización o degradación del mismo.

1.- Se colocarán 30mg de principio activo con 10mL. de propilenglicol, por un periodo de 3 semanas se evaluó la solubilidad, cambio de color y cambio de olor.

## **2.1B Formulación.**

En base a la búsqueda bibliográfica de los excipientes que requiere una suspensión de uso tópico, los estudios de preformulación y una referencia cosmética la cual es vendida bajo el nombre de "Bate and Body Works" , Talco líquido perfumado, se propusieron las siguientes formulaciones:



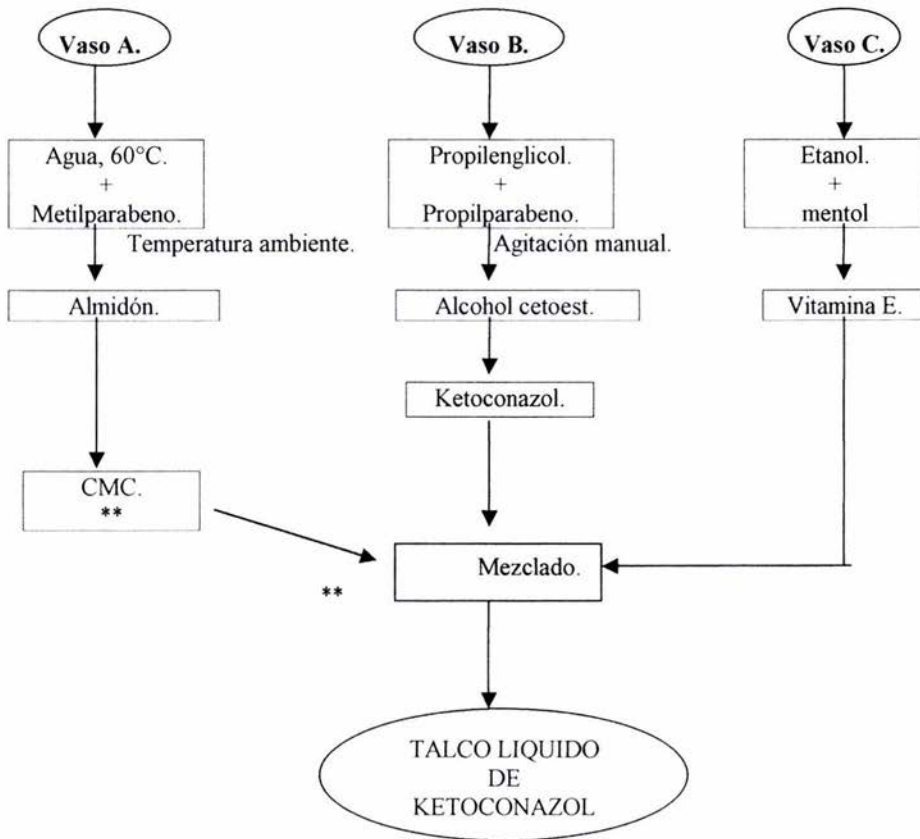
Tipo	Formula 1	Fórmula 2
Ketoconazol.	2 %	2%
Agua destilada.	40 %	40%
Propilenglicol.	2 %	2%
Alcohol etílico.	34 %	33%
Alcohol cetoestearílico	0.2 %	0.2%
Carboximetilcelulosa baja $\eta$	0.5 %	0.5%
Carboximetilcelulosa alta $\eta$	0.5 %	0.5%
Metilparabeno.	0.2 %	0.2%
Propilparabeno.	0.2 %	0.2%
Vitamina E.	0.5 %	0.5%
Mentol.	0.2%	0.2%
Almidón.	19.6 %	19.6%
Aerosil 200		1%

La tabla 2.B muestra las características de “Bate and Body Works”, Talco líquido perfumado.

Característica.	Especificación.	Cumple	No cumple
pH.	6.5 – 7.5		
Viscosidad.	590 – 610 cp		
Color	Verde, homogéneo		
Olor	Agradable		
Humectación	Buena		
Otros	Refrescante.		
Apariencia	Líquido poco viscoso, sin grumos.		

**Tabla 2.B** Características de “Bate and Body Works”, Talco Líquido perfumado.

Proceso de fabricación se muestra en el diagrama 2.1 Fabricación de Talco Líquido de Ketoconazol.



\*\*Etapa de agitación utilizando el ultraturrax, las demás etapas son con agitación manual.

**Diagrama 2.1** Fabricación de Talco Líquido de Ketoconazol.

### 2.1B.1 Diseño de experimentos.

Las características deseadas y establecidas se muestran en las siguientes tablas (2.1A y 2.1B)

<b>Características organolépticas del producto terminado.</b>	
<b>Suspensión.</b>	Uniforme
<b>Color.</b>	Blanco, homogéneo.
<b>Olor.</b>	Mentol.
<b>Otros</b>	Refrescante
<b>Apariencia</b>	Líquido poco viscoso, sin grumos.

**Tabla 2.1A** Características Organolépticas del producto terminado.

<b>Especificaciones del Producto Terminado.</b>	
<b>PH</b>	6.5 – 7.5
<b>Viscosidad.</b>	590 – 610 cp

**Tabla 2.1B** Especificaciones fisicoquímicas que debe cumplir el producto terminado.

Fabricado un lote piloto podemos observar sus características y con ayuda de un diseño de experimentos podemos establecer condiciones para obtener la(s) respuestas deseadas.

En este caso se busca obtener la viscosidad de 600cp manteniendo el pH de 7 y sin perder las características de color, olor y frescura, por lo que se varían tres factores.

Utilizando un diseño factorial  $2^k$ , se variaron las cantidades de carboximetilcelulosa de alta y baja densidad así como de alcohol cetosteárico (ver tabla 2.2). Así se hicieron 8 experimentos aleatorizados por duplicado. Para los cuales las condiciones máximas (+) y condiciones mínimas (-) ya han sido preestablecidas.

<b>Factor</b>	<b>Excipiente</b>	<b>Nivel alto (%) (+)</b>	<b>Nivel bajo (%) (-)</b>
<b>A</b>	carboximetilcelulosa de alta $\eta$ .	0.48	0.18
<b>B</b>	carboximetilcelulosa de baja $\eta$ .	0.48	0.18
<b>C</b>	alcohol cetosteárico	0.4	0.2

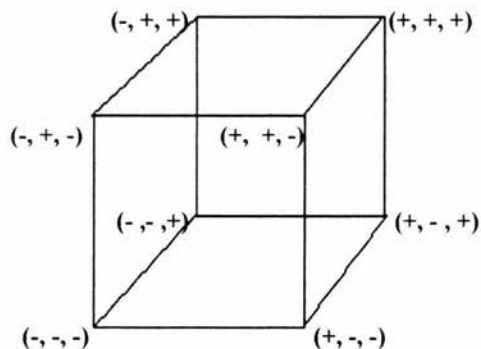
**Tabla 2.2** Porcentajes de factores, Niveles alto y bajo.

La tabla 2.3 muestra el orden de los experimentos, los cuales deben ser aleatorizados, por realizar donde (+) significan condiciones máximas y (-) condiciones mínimas.

Experimento	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	pH	viscosidad
1	-	-	-	+	+	+	-		
2	+	-	-	-	-	+	+		
3	-	+	-	-	+	-	+		
4	+	+	-	+	-	-	-		
5	-	-	+	+	-	-	+		
6	+	-	+	-	+	-	-		
7	-	+	+	-	-	+	-		
8	+	+	+	+	+	+	+		

**Tabla 2.3** Experimentos por realizar.

Con la siguiente figura geométrica 2.1 graficamos las condiciones de los experimentos y podemos delimitar una zona donde nuestras condiciones de cantidades de excipientes nos den los mejores resultados.



**Figura 2.1** Cubo para graficar las condiciones de los experimentos.

Las especificaciones que debe cumplir se muestran a continuación en la tabla 2.1AB.

Característica.	Especificación.	Cumple	No cumple
pH.	6.5 – 7.5		
Viscosidad.	590 – 610 cp		
Color	Blanco, homogéneo		
Olor	Mentol		
Humectación	Buena		
Otros	Refrescante.		
Apariencia	Líquido poco viscoso, sin gomos		

**Tabla 2.1AB Especificaciones de Talco líquido de Ketoconazol.**

A continuación se muestra la metodología para cuantificar el principio activo en La formulación “Talco líquido de Ketoconazol”.

### 2.1C Pruebas de ciclado.

El presente estudio muestra una orientación acerca de la estabilidad física y química del producto.

1. En el material de empaque seleccionado (ver tabla 2.1C1 y 2.1C2) dosificar el producto terminado.
2. Someter el producto a una temperatura de 40°C durante 24 horas.
3. Observar.
4. Someter el producto a una temperatura de 4°C durante 24 horas.
5. Observar
6. Repetir durante 1 semana.

Envase	Día	Temperatura °C.	Observaciones
Polietileno de media densidad, color blanco, capacidad 125mL, tapón dosificador.	Jueves	40	
	Viernes	4	
	Sábado	4	
	Domingo	4	
	Lunes	40	
	Martes	4	
	Miércoles	40	
	Jueves	4	

**Tabla 2.1C1 Envase y tiempo del ensayo.**

Envase	Día	Temperatura °C.	Observaciones
Poliétileno de media densidad, color blanco, capacidad 75mL, tapón dosificador.	Jueves	40	
	Viernes	4	
	Sábado	4	
	Domingo	4	
	Lunes	40	
	Martes	4	
	Miércoles	40	
	Jueves	4	

**Tabla 2.1C2** Envase y tiempo del ensayo.

Ahora se cuenta con una forma farmacéutica en suspensión de aplicación tópica, con un proceso de fabricación establecido y con un envase primario definido. Por lo que surge la necesidad de desarrollar otros estudios tales como la cuantificación del principio activo, lo cual es necesario para lograr asegurar que el Ketoconazol se encuentra a un nivel terapéutico adecuado, en la formulación.

### 2.2.1 Desarrollo de un Método Analítico para la cuantificación de Ketoconazol en Talco Líquido.

El método analítico, consistirá en separar el principio activo de los excipientes, así como la cuantificación del principio activo, utilizando las técnicas de: cromatografía en capa fina y Espectrofotometría en la región Ultravioleta. Siguiendo las etapas que a continuación se esquematizan:



Para el desarrollo de un método analítico se deben seguir los siguientes pasos:

- ✓ Definir el método analítico.
  - Muestra: Talco líquido de Ketoconazol.
  - Técnicas analíticas: U.V y cromatografía en capa delgada.

Información bibliográfica. Propiedades físicas y químicas tanto del principio activo como de cada componente.

Para ketoconazol:

<b>Característica</b>	<b>Especificación</b>
<b>Solubilidad</b>	<b>Soluble</b> en: cloroformo, metanol y ácido clorhídrico diluido. <b>Ligeramente soluble</b> en éter <b>Insoluble</b> en agua.
<b>Detección en U.V, visible.</b>	Metanol : 244nm. Cloroformo: 298nm

Los excipientes que se consideran importantes son los que presenten dobles ligaduras conjugadas, ya que son los que pueden presentar alguna interferencia en la cuantificación del principio activo, estos excipientes son: los conservadores metilparabeno y propilparabeno, así como la vitamina E. Además se considera que se podría presentar un efecto de desplazamiento de longitud de onda máxima, del ketoconazol, por parte de el alcohol cetosteárico y por parte del propilenglicol. Por lo que además de observar una separación física gracias a la cromatografía en capa delgada, se observa si en el equipo espectrofotométrico no existe un desplazamiento de la longitud de onda máxima o una interferencia en la zona donde absorbe la molécula de ketoconazol.

- ✓ Definir variables:
  - c) Controlables. pH.
  - d) De respuesta: el porciento de recobro.
- ✓ Validación. (según guías: FDA, ICH, SSA)

Lo primero que se necesita es contar con Talco Líquido de Ketoconazol como producto terminado y como placebo por lo que:

1) Se fabricarán 2 lotes de Talco Líquido de Ketoconazol como producto terminado y un lote de placebo (excipientes sin principio activo), tomando en cuenta las especificaciones y características organolépticas establecidas.

Característica.	Especificación.	Cumple	No cumple
pH.	6.5 – 7.5		
Viscosidad.	590 – 610 cp		
Color	Blanco, homogéneo		
Olor	Mentol		
Humectación	Buena		
Otros	Refrescante.		
Apariencia	Líquido poco viscoso, sin grumos		

El Método Analítico se aplicará en los casos de:

- A) Principio activo como materia prima.
- B) Producto terminado.
- C) Placebo.

#### Formulación:

Tipo	Porcentaje
Ketoconazol.	2 %
Agua destilada.	40 %
Propilenglicol.	2 %
Alcohol etílico.	34 %
Alcohol cetosteárico	0.4 %
Carboximetilcelulosa baja densidad	0.48 %
Carboximetilcelulosa alta densidad	0.22 %
Metilparabeno.	0.2 %
Propilparabeno.	0.2 %
Vitamina E.	0.5 %
Mentol.	0.2%
Almidón.	19.8 %

Antes de comenzar con la metodología para cuantificar Ketoconazol como producto terminado, se necesita contar con un método para cuantificar Ketoconazol como materia prima, la cual se presenta a continuación.



### 2.2.2 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.

Dado que la metodología espectrofotométrica es de referencia, necesitamos un punto de comparación, por lo que se cuantificará la materia prima Ketoconazol, con la siguiente metodología.

#### Material.

- ✓ 3 Matraces aforados de 10 mL.
- ✓ 1 Espátula.
- ✓ 1 Nave.
- ✓ 3 pipetas volumétricas de 1mL.
- ✓ 1 celda de Cuarzo, paso óptico de 1cm.

#### Equipo.

- ✓ Balanza digital.
- ✓ Espectrofotometro U.V, Shimatzu I

#### Reactivos.

Ketoconazol.

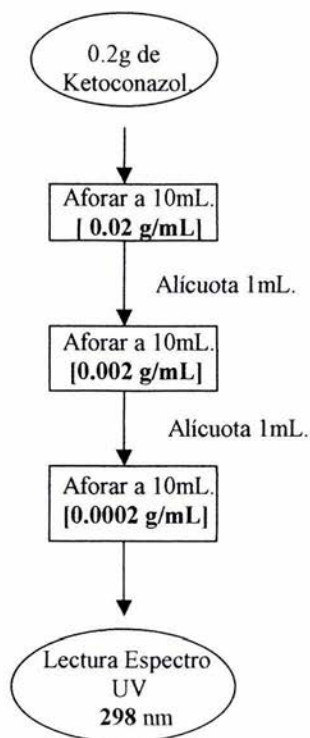
Cloroformo.

A continuación se muestra la metodología propuesta para cuantificación de Ketoconazol como materia prima.

#### Metodología:

- a) Se pesan, con exactitud **0.2g** de Ketoconazol, materia prima.
- b) Se trasvasa a un matraz aforado de **10mL**, se afora con cloroformo para obtener una concentración de **0.02g/mL**.
- c) De la solución anterior se tomará una alícuota de **1 mL**, se trasvasa a un matraz de 10 mL llevando a volumen con cloroformo, obteniendo a una concentración de **0.002g/mL**.
- d) Nuevamente de la solución anterior se toma una alícuota de 1 mL; esta alícuota se transfiere a un matraz aforado de 10 mL y se lleva a volumen con cloroformo obteniendo así una concentración de **0.0002g/mL**.
- e) Se mide la absorbancia de esta solución final en el espectrofotómetro, utilizando cloroformo como blanco, a una longitud de onda de **298 nm**. Obteniendo así una relación concentración – absorbancia, que servirá para cálculos posteriores.

El siguiente diagrama 2.2 describe el tratamiento de la muestra de Ketoconazol como materia prima.



**Diagrama 2.2** Cuantificación de Ketoconazol mediante la técnica de espectrofotometría en la región de ultravioleta.

Especificaciones:	
0.0002 g de Ketoconazol disuelto en cloroformo	longitud de onda de 298nm, utilizando una celda de cuarzo de 1cm de paso óptico y cloroformo como sustancia blanco tiene una absorbancia de 0.690.

El siguiente paso es proponer la manera de cuantificar Ketoconazol en Talco Líquido, separando el principio activo de todos los excipientes y logrando que la absorbancia se deba solamente al principio activo y no a algún otro compuesto.

### 2.2.3 Metodología para cuantificar Ketoconazol en producto terminado, placebo o placebo cargado.

#### Material. \*

- ✓ Capilares de vidrio.
- ✓ 1 vaso de precipitados de 100mL.
- ✓ Placa de silicagel, dimensiones 10 X 20 cm, espesor 0.25mm.
- ✓ Placa de vidrio.
- ✓ Buchner y Kitasato.

#### Equipo. \*

- ✓ Parrilla.
- ✓ Cámara de elusión.
- ✓ Lámpara U.V.

#### Reactivos\*:

- ✓ n-Hexano.
- ✓ Acetato de etilo.
- ✓ Metanol
- ✓ Talco Líquido de Ketoconazol (Placebo).

\* Material, Equipo y Reactivos, se utilizan los indicados en el presente apartado. además de los utilizados para el apartado 2.2.2 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.

El método propuesto se desarrolló de acuerdo a las características de la forma farmacéutica y la molécula. El método es aplicable para Producto Terminado, Placebo Cargado o Placebo, según se requiera.

#### Extracción e Identificación.

- a) Se mide el equivalente a 0.2g de Ketoconazol, en Talco Líquido, aproximadamente 10mL.
- b) El volumen será distribuido de forma homogénea, sobre una placa de vidrio la cual se somete a un calentamiento de 35-40° C, logrando secado o evaporación de algunos componentes (almidón, agua y etanol). Es importante realizar el control de la temperatura para evitar una descomposición de principio activo.

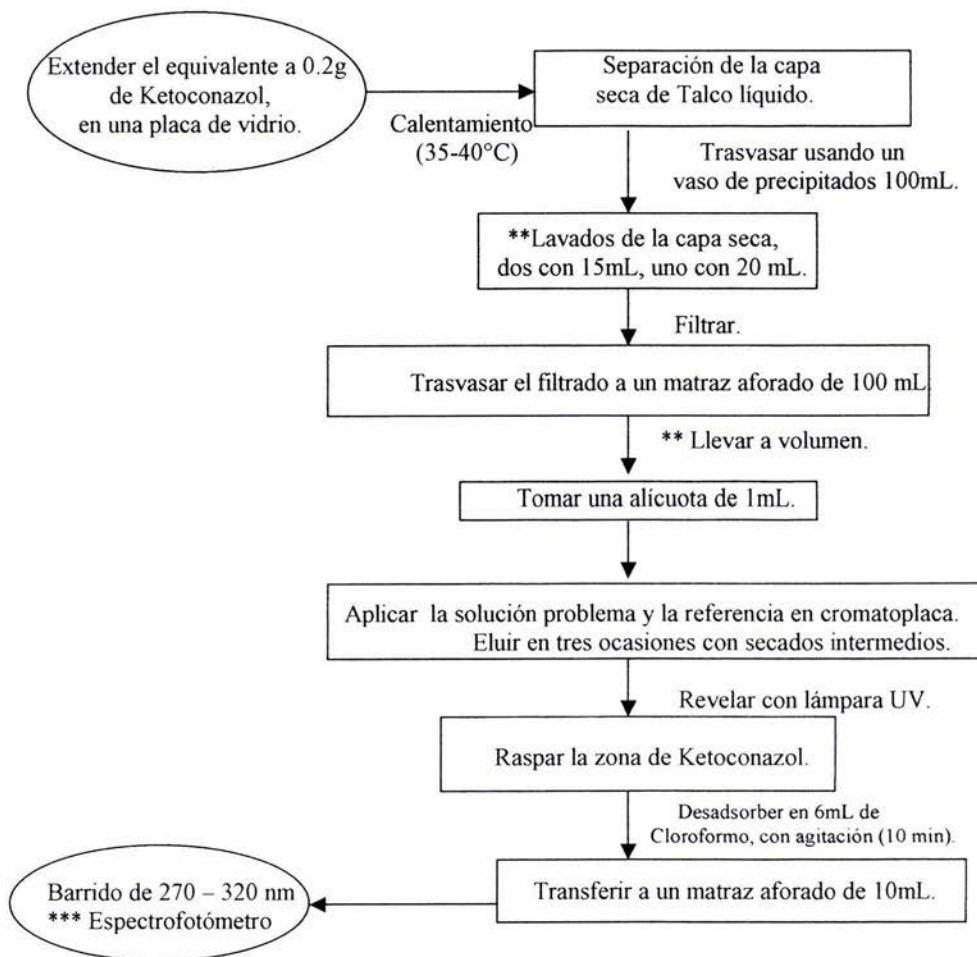
- c) La capa de Talco Líquido seca, se separa con una espátula de la placa de vidrio. La capa de Talco Líquido separada se coloca dentro de un vaso de precipitados de 100mL. junto con 15mL. de cloroformo, se agita para disolver el principio activo y posteriormente se filtra.
- d) La capa de talco se devuelve al vaso de precipitados, agregando 15mL. más de cloroformo.
- e) Nuevamente se repite el proceso de extracción, esta vez agregando 20 mL. de cloroformo.
- f) El filtrado se trasvasa a un matraz aforado de 100mL. y se lleva a volumen con cloroformo obteniendo [0.002g/mL].
- g) Se toma 1 mL., de la solución preparada [0.002g/mL], el cual se aplica a lo largo de la cromatoplaça, utilizando un capilar, la referencia de Ketoconazol debe estar presente en cualquier extremo de la cromatoplaça, teniendo cuidado de que la referencia y la solución problema no se confundan ni se interfieran.
- h) La placa se coloca en una cámara de elución, donde la fase móvil se compone de: 42% n-hexano, 40% acetato de etilo y 18% metanol. La placa debe eluir un mínimo de tres veces, con secados intermedios.
- i) La placa se revela, utilizando una lámpara de U.V. Posteriormente, se raspa la zona en donde se encuentra el Ketoconazol.  
Hasta éste último paso, se ha identificado parcialmente y se ha logrado la extracción del principio activo Ketoconazol.

#### **Cuantificación e Identificación.**

- j) El Ketoconazol se desadsorbe, de la sílicagel, en 6mL. de cloroformo con agitación manual, durante 10 minutos. Filtrar y posteriormente el filtrado se afora a 10mL.

k) Finalmente, se hace un barrido usando cloroformo como blanco en un rango de longitud de onda de **270 – 320 nm** obteniendo un solo pico, cuyo máximo estará alrededor de 298 nm y la concentración debe ser equivalente a **0.0002g/mL**.

El siguiente diagrama 2.3, muestra el proceso de extracción, identificación y cuantificación del principio activo.



\*\* Llevar a volumen

**Diagrama 2.3** Extracción, Identificación y Cuantificación de Ketoconazol en Talco Líquido.

\*\* Se usa como disolvente cloroformo.

\*\*\* Como sustancia blanco se usa cloroformo.

La Validación del Método Analítico es el proceso por el cual se establece, por medio de estudios en laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones del método analítico es parte fundamental de este proceso se realiza mediante la evaluación de los parámetros ya antes mencionados (ver Tabla 1.10 Parámetros para la Validación de Métodos Analíticos.), la metodología para validar se muestra en los siguientes apartados.

Características analíticas por ejecutar	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Cuantitativa	Prueba límite		
Exactitud	✓	✓	*	*	✗
Precisión	✓	✓	✗	✓	✗
Especificidad	✓	✓	✓	*	✓
Límite de detección	✗	✗	✓	*	✗
Límite de cuantificación	✗	✓	✗	*	✗
Linealidad	✓	✓	✗	*	✗
Rango	✓	✓	*	*	✗

\* Tal vez se requiere, dependiendo de la naturaleza de pruebas específicas.

**Tabla 1.10** Parámetros para la Validación de Métodos Analíticos.

## 2.3 VALIDACIÓN.

### 2.3.1 ESPECIFICIDAD.

Para valorar el parámetro Especificidad del Método Analítico, se utilizó la técnica de Cromatografía en Capa Fina y el método de Espectrofotometría en la región Ultravioleta, como a continuación se describe. Los materiales, equipo y reactivos son los mismos utilizados en el apartado 2.2.2 Metodología para cuantificar Ketoconazol en producto terminado, placebo o placebo cargado.

### 1) Preparación de la “Placa 1”.

La siguiente tabla 2.4 muestra la preparación de las soluciones y un orden para la aplicación en la cromatoplaaca cuya fase móvil será: 42% n-hexano, 40% acetato de etilo y 18% metanol. Con esta placa se busca observar productos de degradación por; acidez, alcalinidad u oxidación, conociendo la cantidad de principio activo contenido en 10mL de placebo.

Solución.	Tipo.	Preparación
A	Referencia de Ketoconazol.	*
B	Placebo.	Almacenaje en condiciones normales de temperatura 4 semanas.
C	Placebo cargado.	Almacenaje en condiciones normales de temperatura 4 semanas.
D	Placebo.	Almacenaje en condiciones ácidas pH = 1, temperatura 80°C, 4 semanas.
E	Placebo cargado.	Almacenaje en condiciones ácidas pH = 1, temperatura 80°C, 4 semanas.
F	Placebo.	Almacenaje en condiciones básicas pH = 12, temperatura 80°C. 4 semanas
G	Placebo cargado.	Almacenaje en condiciones básicas pH = 12, temperatura 80°C, 4 semanas.
H	Placebo	Almacenaje en condiciones de oxidación, temperatura ambiente, 4 semanas.
I	Placebo cargado	Almacenaje en condiciones de oxidación, temperatura ambiente, 4 semanas.

**Tabla 2.4** Preparación, de las soluciones por aplicar a la cromatoplaaca.

\* Preparación de la referencia.

- Se pesan, con exactitud **0.2g** de ketoconazol, materia prima, se trasvasa a un matraz aforado de **10mL**, se afora con cloroformo para obtener una concentración de **0.02g/mL**.
- a) Posterior a las cuatro semanas de almacenaje, se realiza la Extracción según el apartado 2.2.3 Metodología para cuantificar Ketoconazol en producto terminado, placebo o placebo cargado.
- b) Se debe marcar de izquierda a derecha siguiendo el orden de la tabla 2.3. El siguiente diagrama 2.4 muestra una cromatoplaaca marcada con el orden de

aplicación, donde el sistema de elución se compone de: 42% n-hexano, 40% acetato de etilo y 18% metanol.

- c) La placa debe eluir un mínimo de tres veces, con secados intermedios.



**Diagrama 2.4** Aplicación de Soluciones en la Cromatoplaca.

## 2) Preparación de la "Placa 2".

La siguiente tabla 2.5 indica las cantidades y los componentes de las soluciones por aplicar a la Placa 2 cuyo medio de elución será: 42% n-hexano, 40% acetato de etilo y 18% metanol. Con esta placa se pretende observar si existe la separación de excipientes - principio activo, además se realizará un barrido de cada solución con la finalidad de observar si existe alguna respuesta en el intervalo de 270 a 320 nm, por parte de algún excipiente.

Para la placa:

- ✓ Se aplica una solución de referencia (solución A\*).

Para las soluciones:

- ✓ El disolvente para la preparación de soluciones (1-7 y A) será cloroformo y el volumen de aforo será 10 mL.



\* Preparación de la referencia: Se pesan, con exactitud **0.2g** de ketoconazol, materia prima, se trasvasa a un matraz aforado de **10mL**, se afora con cloroformo para obtener una concentración de **0.02g/mL**.

Tipo.	Cant.	Sol.1	2	3	4	5	6	7	A
Propilenglicol.	0.2 mL	✓						✓	
Alcohol cetoestearílico.	0.2 g		✓					✓	
Metilparabeno	0.2 g			✓				✓	
Propilparabeno	0.2 g				✓			✓	
Vitamina E.	0.2 mL					✓		✓	
Mentol.	0.2 g						✓	✓	
Ketoconazol.	0.2 g	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

**Tabla 2.5** Preparación de soluciones, por aplicar en la placa 2.

- a) Además de la aplicación de las soluciones preparadas, en una cromatoplaqa, conforme a la tabla 2.5, a cada solución se aplicará un barrido.
- b) Para la lectura de las soluciones se deben hacer 2 diluciones:
  1. A partir de la solución preparada (1 -7 y la solución referencia A); se tomará una alícuota de 1 mL y aforar a 10mL.
  2. Repetir este último procedimiento.
  3. Esta última solución será leída en el espectrofotómetro, con un barrido de 270 a 320nm.

Placa.	Descripción.
1	Se buscan productos de degradación y se observa la separación de matriz-Ketoconazol.
2	Se buscan los excipientes que puedan interferir en la identificación del Ketoconazol. A partir de la medición espectrofotométrica de cada solución (Tabla 2.5), se busca interferencia o desplazamiento de la longitud de onda máxima del ketoconazol por parte de algún componente del Talco Líquido.

### 2.3.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Para evaluar la Linealidad del Sistema, por medio de técnica de Espectrofotometría en la región de Ultravioleta se utiliza el mismo Material, Equipo y Reactivos que el

apartado 2.2.2 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.

- a) Utilizar el principio activo Ketoconazol como referencia, pesando exactamente **0.2g** de Ketoconazol, adicionar a un matraz aforado de 10mL llevar a volumen con cloroformo obteniendo una concentración de 0.02g/mL.
- b) Tomar una alícuota de 1mL de la solución anterior y llevar a volumen, obteniendo una concentración 0.002g/mL de ketoconazol (Solución Stock).
- c) A partir de la Solución Stock [**0.002g/mL**], se harán 5 diluciones. La tabla 2.6 muestra el volumen a tomar de la Solución Stock, para llegar a las concentraciones deseadas. Considerar que el 100% de principio activo corresponde a [0.0002 g/mL.]

%	[g/mL]	Alícuota en mL	Llevar a un volumen de
60	0.00012	0.6	10
80	0.00016	0.8	10
<b>100</b>	<b>0.0002</b>	<b>1</b>	<b>10</b>
120	0.00024	1.2	10
140	0.00028	1.4	10

**Tabla 2.6** Alícuotas por tomar para llegar a las concentraciones deseadas.

- d) Una vez hechas las diluciones, se medirán las absorbancias de cada dilución, a una longitud de onda 298 nm. El análisis se hace por **triplicado**.
- e) La linealidad se evaluará estadísticamente, aplicando una regresión lineal en una gráfica Concentración vs Absorbancia y calculando el Coeficiente de Variación entre las tres réplicas para el estudio de linealidad.
- f) Se espera que exista una equivalencia entre concentración y absorbancia, para construir una gráfica la cual debe cumplir con los criterios de especificación, comprobando que el sistema es Lineal.

### Especificaciones.

Para que el sistema sea lineal:

Prueba estadística	Especificación.
Coefficiente de Variación	$\leq 1.5\%$
r	$\geq 0.99$
$r^2$	$\geq 0.98$ .

### 2.3.3 PRECISIÓN DEL SISTEMA

La Precisión del Sistema se evaluará mediante la técnica de espectrofotometría en la región Ultravioleta. El material, equipo y reactivos, es el mismo que en el apartado 2.2.2 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.

- a) La Precisión del Sistema se evaluará, preparando una solución estándar nivel al 100% [0.0002 g/mL] y midiéndola en el equipo de Espectrofotometría en la región Ultravioleta por sextuplicado.
- b) Se espera que el método sea preciso si al obtener la absorbancia de los seis datos, cumple con los criterios de especificación.

### Especificaciones:

Prueba estadística.	Especificación.
Coefficiente de Variación	$\leq 1.5\%$

### 2.3.4 LINEARIDAD DEL MÉTODO

A continuación se plantea la metodología para evaluar la Linealidad y Exactitud de la cuantificación de Ketoconazol en Talco Líquido, por el método de espectrofotometría en la región Ultravioleta.

Estos parámetros pueden ser evaluados de manera conjunta, utilizando placebo cargado, cuya cuantificación se hará conforme el apartado 2.2.2 Metodología para cuantificar Ketoconazol en producto terminado, placebo o placebo cargado.

La siguiente tabla 2.7 muestra las cantidades de Ketoconazol agregado al placebo.

%	Cantidad de Ketoconazol en g.
80	0.160
110	0.220
120	0.240

**Tabla 2.7 Cantidades de Principio Activo agregado al placebo.**

- A partir de las cantidades adicionadas al lote placebo, se realizan las respectivas extracciones
- Con los resultados de por ciento de recobro, se espera que la cantidad adicionada sea equivalente a la cantidad recuperada, según los criterios de especificación.

**Especificaciones:**

Prueba estadística	Especificación.
Porcentaje de recobro.	97 – 103%
Coefficiente de Variación	≤3%
r <sup>2</sup> (gráfica cantidad adicionada vs cantidad recuperada)	≥ 0.98.

**2.3.5 REPRODUCIBILIDAD.**

El método propuesto debe ser Reproducible. El material, equipo, reactivos utilizados en 2.1.1 Metodología para la cuantificación de Ketoconazol como referencia o materia prima.

Se propone que los Parámetros por evaluar sean:

- ✓ Dos Analistas.
- ✓ Dos Días.
- ✓ Metodología será hecha por Duplicado en Producto Terminado.
- ✓ La tabulación de resultados se hará conforme a la tabla 2.8.

	<b>Analista 1.</b>	<b>Analista 2.</b>
<b>Día 1</b>		
<b>2</b>		

**Tabla 2.8** Tabulación de resultados.

**Especificaciones:**

El Coeficiente de Variación debe ser menor o igual al 3%.

El Desarrollo Farmacéutico, toma importancia desde el momento en que se empieza a pensar en una nueva forma farmacéutica o en una optimización de una formulación, en otras palabras el seguir las etapas lleva a obtener un producto nuevo o uno mejorado que sea seguro y eficaz. De igual importancia es el Desarrollo Analítico, para el cual se debe de tener la información necesaria de la formulación por analizar, ya que es gracias a él cuando el analista puede asegurar que el producto cuenta con la cantidad correcta de principio activo, además de asegurar que no existen contaminantes por degradaciones o por causa de algún otro principio activo.

**CAPITULO 3  
RESULTADOS  
Y  
ANÁLISIS..**

Ahora se presentan los resultados obtenidos desde la formulación hasta el desarrollo analítico.

**3.1A Preformulación.**

- ✓ Caracterización del principio activo.

<b>Característica.</b>	<b>Especificación.</b>	<b>Cumple.</b>	<b>No cumple.</b>
Descripción física.	Polvo blanco ligeramente amarillo	X	
Punto de fusión.	148-152°C	X	
Solubilidad en propilenglicol.	Soluble	X	

La descripción física, es una característica que se puede percibir de manera inmediata, no garantiza la identidad de los compuestos, sin embargo es un parámetro que debe ser documentado, por cuestión de control de calidad. El punto de fusión, en cambio es un parámetro fácil de determinar, da una idea de la pureza y no necesita de una referencia, el punto de fusión fue de 150°C, lo cual indica que es Ketoconazol. El Ketoconazol es soluble en propilenglicol, es importante debido a que se pretende solubilizar el ketoconazol en este excipiente, además durante un periodo de 1 mes, no se observa precipitación o presencia de partículas ni tampoco cambios de color.

Las características físicas de los excipientes:

Tipo	Descripción.	Cumple	No cumple
Propilenglicol.	Líquido incoloro e inodoro, de consistencia oleosa.	X	
Alcohol cetosteárico	Sólido de color blanco, céreo de olor característico	X	
Carboximetilcelulosa baja $\eta$	Polvo blanco ligeramente amarillo, olor característico	X	
Carboximetilcelulosa alta $\eta$	Polvo blanco ligeramente amarillo, olor característico.	X	
Metilparabeno.	Polvo color blanco.	X	
Propilparabeno.	Cristales color blanco.	X	
Vitamina E.	Líquido oleoso color ambar.	X	
Mentol.	Sólido cristalino en forma de aguja.	X	
Almidón.	Polvo fino blanco, muy adherente.	X	

✓ Degradación del principio activo.

Para encontrar las especies degradadas se utiliza la técnica de cromatografía en capa delgada cuya fase móvil y soluciones por aplicar son:

	Solución.	Rf
<b>A</b>	30mg de ketoconazol en 3mL de cloroformo.	0.27
<b>B</b>	30 mg de ketoconazol en 1ml de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7N.	0.19
<b>C</b>	30 mg de ketoconazol en 1mL de NaOH 7N.	0.19
<b>D</b>	30 mg de ketoconazol en 1ml de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 30%.	0.05

El principio activo no es estable a condiciones ácidas, básicas o de oxidación, por lo que la formulación debe tener un pH neutro.

### 3.1B Formulación.

En base a la búsqueda bibliográfica de los excipientes que requiere una suspensión de uso tópico, los estudios de preformulación y una referencia cosmética la cual es vendida bajo el nombre de “Bate and Body Works” , Talco líquido perfumado, se propusieron las siguientes formulaciones:

Tipo	Fórmula 1	Fórmula 2
Ketoconazol.	2 %	2%
Agua destilada.	40 %	40%
Propilenglicol.	2 %	2%
Alcohol etílico.	34 %	33%
Alcohol cetosteárico	0.2 %	0.2%
Carboximetilcelulosa baja $\eta$	0.5 %	0.5%
Carboximetilcelulosa alta $\eta$	0.5 %	0.5%
Metilparabeno.	0.2 %	0.2%
Propilparabeno.	0.2 %	0.2%
Vitamina E.	0.5 %	0.5%
Mentol.	0.2%	0.2%
Almidón.	19.6 %	19.6%
Aerosil 200		1%

Las características de la Fórmula 1:

<b>Fórmula 1.</b>			
<b>Característica.</b>	<b>Especificación.</b>	<b>Cumple</b>	<b>No cumple</b>
<b>pH.</b>	6.5 – 7.5	X	
<b>Viscosidad.</b>	590 – 610 cp		X
<b>Color</b>	Blanco, homogéneo	X	
<b>Olor</b>	Mentol	X	
<b>Humectación</b>	Buena	X	
<b>Otros</b>	Refrescante.	X	
<b>Aspecto</b>	Líquido poco viscoso, sin grumos.		X



La viscosidad es diferente a la formulación cosmética de referencia, por lo que más bien tiene consistencia cremosa y lo que buscamos es que tenga una consistencia más “fluida”, por lo que buscando que nuestra formulación tenga características similares o iguales a la formulación cosmética “Bate and Body Works” , Talco líquido perfumado, requerimos mantener el pH de 7 que hemos logrado y solamente modificaremos la viscosidad.

La Fórmula 2, a pesar de cumplir con las características que a continuación se presentan, al secar no solo deja los residuos de almidón si no también residuos de Aerosil, lo cual da un aspecto desagradable a la piel, como si esta se estuviera descamando. Por lo que nos concentramos en la Formula 1.

<b>Fórmula 2.</b>			
<b>Característica.</b>	<b>Especificación.</b>	<b>Cumple</b>	<b>No cumple</b>
pH.	6.5 – 7.5	X	
Viscosidad.	590 – 610 cp		X
Color	Blanco, homogéneo	X	
Olor	Mentol	X	
Humectación	Buena	X	
Otros	Refrescante.	X	
Aspecto	Líquido poco viscoso, sin grumos		X

Los tres excipientes que influyen en la viscosidad son

<b>Factor</b>	<b>Excipiente</b>	<b>Nivel alto (%) (+)</b>	<b>Nivel bajo (%) (-)</b>
<b>A</b>	carboximetilcelulosa de alta. $\eta$	0.48	0.18
<b>B</b>	carboximetilcelulosa de baja $\eta$	0.48	0.18
<b>C</b>	alcohol cetoestearílico	0.4	0.2

Donde:

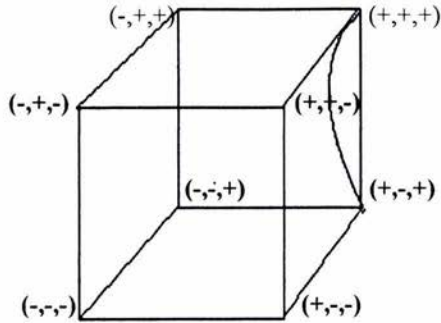
Ho: El efecto de A, B o C es 0

H1: El efecto de A, B o C es diferente de 0

Experimento	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	pH	viscosidad
1	-	-	-	+	+	+	-	7	-----
2	+	-	-	-	-	+	+	7	-----
3	-	+	-	-	+	-	+	7	-----
4	+	+	-	+	-	-	-	7	-----
5	-	-	+	+	-	-	+	7	-----
6	+	-	+	-	+	-	-	7	100 cp
7	-	+	+	-	-	+	-	7	-----
8	+	+	+	+	+	+	+	7	900 cp

**Tabla 3.1** Resultados de pH y viscosidad.

Se muestran únicamente dos viscosidades medidas, dado que hay un factor muy importante en una suspensión el cual es la floculación, los experimentos cuyas viscosidades no se muestran presentaron el fenómeno de “apelmazamiento”, no son resuspendibles además que presentaron sedimentación al quinto día de estar almacenadas. En cuanto al pH, si se puede medir y tiene un valor de 7 el cual se considera adecuado para que la piel no presente una irritación. La figura 3.1 muestra las condiciones, en la zona sombreada, donde se encuentran las condiciones óptimas de los factores para obtener una viscosidad de 600 cp.



**Figura 3.1** La zona coloreada muestra las condiciones donde se encuentran las condiciones óptimas para obtener la viscosidad deseada.

A continuación se muestran el contraste, efecto y coeficientes de los experimentos así como la ecuación con la que se puede calcular el valor codificado de cada factor que influye en la viscosidad del producto terminado.

	<b>Contraste</b>	<b>Efecto</b>	<b>Coefficiente</b>
<b>A</b>	1000	250	125
<b>B</b>	800	200	100
<b>C</b>	1000	250	125
<b>AB</b>	1000	250	125
<b>AC</b>	1000	250	125
<b>BC</b>	800	200	100
<b>ABC</b>	800	200	100

Donde el contraste se calcula con la suma o la resta de alguno de los factores por ejemplo para A:

$$C_A = +100 + 900 = 1000$$

$$C_{ABC} = -100 + 900 = 1000$$

El efecto se calcula dividiendo el contraste entre ( $2^{k-1}$  \* número de réplicas)

$$E_A = 1000/4 = 250$$

$$E_{ABC} = 250$$

El coeficiente es el efecto dividido entre el número de niveles.

$$\text{Coeficiente} = E_A/2$$

$$\text{Coeficiente} = E_{ABC}/2$$

Con lo que se obtiene la siguiente ecuación:

$$\text{Viscosidad} = b_0 + 125A + 100B + 125C + 125AB + 125AC + 100BC + 100AB$$

Donde  $b_0$  tiene un valor de 500, calculado de la división de la suma total de las respuestas entre el número total de experimentos.

$$b_0 = 100 + 900/2 = 500$$

Un análisis de variancia (ANOVA) en este caso no se puede aplicar por la cantidad de datos, no son suficientes. Debido a que los experimentos que presentaron una sedimentación excesiva no son de nuestro interés, por que además de buscar un valor específico de viscosidad, no debe de existir sedimentación y en caso de existir debe ser una suspensión de fácil resuspendibilidad. Sin embargo la ecuación es de mucha utilidad ya que con ella se pueden obtener valores que estén dentro de la zona de respuesta, ver figura 3.1.

A continuación se muestran los resultados de los cálculos para encontrar las condiciones óptimas.

Factor	Excipiente	Porcentaje en la formulación
A	carboximetilcelulosa de alta $\eta$ .	0.48
B	carboximetilcelulosa de baja $\eta$ .	0.22
C	alcohol cetoestearílico	0.4

Obteniendo una formulación óptima cuyas características son:

<b>"Talco Líquido de Ketoconazol".</b>			
Característica.	Especificación.	Cumple	No cumple
<b>pH.</b>	6.5 – 7.5	X	
<b>Viscosidad.</b>	590 – 610 cp	X	
<b>Color</b>	Blanco, homogéneo	X	
<b>Olor</b>	Mentol	X	
<b>Humectación</b>	Buena	X	
<b>Otros</b>	Refrescante.	X	
<b>Aspecto</b>	Líquido poco viscoso, sin grumos.		X

Ahora utilizando la fórmula que hemos optimizado:

<b>Tipo</b>	<b>Porcentaje</b>
Ketoconazol.	2 %
Agua destilada.	40 %
Propilenglicol.	2 %
Alcohol etílico.	34 %
Alcohol cetoestearílico	0.4 %
Carboximetilcelulosa baja densidad	0.48 %
Carboximetilcelulosa alta densidad	0.22 %
Metilparabeno.	0.2 %
Propilparabeno.	0.2 %
Vitamina E.	0.5 %
Mentol.	0.2%
Almidón.	19.8 %

Se fabricará un lote piloto para realizar pruebas de ciclado.

### 3.1C Pruebas de ciclado.

Después de someter a un lote piloto a pruebas de ciclado por periodo de una semana, se observa si el material de empaque cumple con la función de proveer protección

<b>Envase</b>	<b>Día</b>	<b>Temperatura °C.</b>	<b>Observaciones</b>
Polietileno de media densidad, color blanco, capacidad 125mL, tapón dosificador.	Jueves	40	La viscosidad final es de 500cp, se presenta un color rosa solo en la zona donde está la rosca del tapón, el resto del producto es de color blanco, homogéneo.
	Viernes	4	
	Sábado	4	
	Domingo	4	
	Lunes	40	
	Martes	4	
	Miércoles	40	
Jueves	4		

**Tabla 3.1C1** Envase y tiempo del ensayo.

Envase	Día	Temperatura °C.	Observaciones
Poliétileno de media densidad, color blanco, capacidad 75mL, tapón dosificador.	Jueves	40	La viscosidad final es de 500cp, se presenta un color rosa solo en la zona donde está la rosca del tapón, el resto del producto es de color blanco, homogéneo.
	Viernes	4	
	Sábado	4	
	Domingo	4	
	Lunes	40	
	Martes	4	
	Miércoles	40	
	Jueves	4	

**Tabla 3.1C2** Envase y tiempo del ensayo.

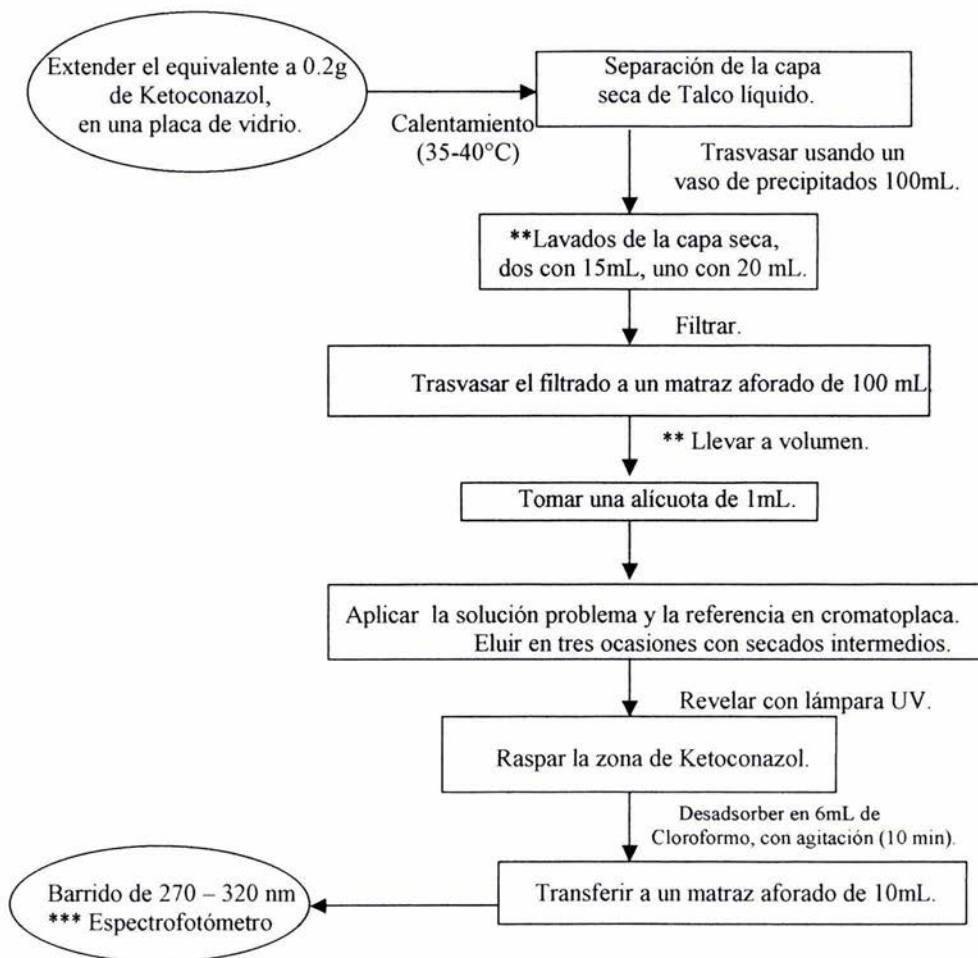
Se realizó una cromatoplaque para observar si el principio activo no se había degradado, resultando en un Rf de 0.26 al igual que el de la muestra de referencia, lo que indica que no existe degradación, posiblemente la parte rosa se deba a degradación de Ketoconazol, por que al aplicar sobre la misma cromatoplaque la parte rosa existe una mancha con un Rf de 0.20. Por lo que ambos envases primarios cumplen con la función de proteger el producto, con excepción de la tapa la cual posiblemente sea de algún otro material.

### 3.2.1 Desarrollo de un Método Analítico para la cuantificación de Ketoconazol en Talco Líquido.

Necesitamos muestra es decir Talco Líquido de Ketoconazol como producto terminado y como placebo, de las dos formas cada lote cumple con las siguientes características.

"Talco Líquido de Ketoconazol".			
Característica.	Especificación.	Cumple	No cumple
pH.	7	X	
Viscosidad.	600 cp	X	
Color	Blanco, homogéneo	X	
Olor	Mentol	X	
Humectación	Buena	X	
Otros	Refrescante.	X	

El método propuesto para la cuantificación de Ketoconazol es el que se muestra en el diagrama 2.3, éste método debe ser validado, demostrando que cumple con los criterios de: especificidad, linealidad y precisión del sistema, exactitud y reproducibilidad.



\*\*\* Espectrofotómetro      \*\* Llevar a volumen

**Diagrama 2.3** Extracción, Identificación y Cuantificación de Ketoconazol en Talco Líquido.

### 3.2 Especificidad.

A continuación se muestran los resultados (Tabla 3.1A y 3.1B) de **Rf**, obtenidos a partir de la relación; distancia recorrida por el disolvente y la distancia recorrida por la muestra, ambas observadas y medidas en unidades de centímetros en las cromatoplasas (Placa 1 y 2), revelando con lámpara de luz U.V. Donde encontramos, que similar a los resultados de la caracterización del principio activo en condiciones ácidas, básicas y de oxidación el **Rf** es menor en comparación al **Rf** de la referencia, la diferencia es que en este caso también se encuentran presentes los excipientes, recordando que este ensayo se realiza con placebo cargado, los cuales a pesar de las tres diferentes condiciones a las que fueron expuestos los placebos cargados, existe una buena separación entre los excipientes y el principio activo.

Solución.	Tipo.	Descripción
A	Referencia de Ketoconazol.	
B	Placebo.	Temperatura ambiente.
C	Placebo cargado.	
D	Placebo.	Condiciones ácidas, temperatura 80°C, 4 semanas.
E	Placebo cargado.	
F	Placebo.	Condiciones básicas, temperatura 80°C, 4 semanas.
G	Placebo cargado.	
H	Placebo	Condiciones de oxidación, temperatura ambiente, 4 semanas.
I	Placebo cargado	

#### Placa 1.

Tipo.	Dd	Dm.	Rf <sub>1</sub>	Dd.	Dm.	Rf <sub>2</sub>
Solución ácida.	12cm	2.5cm	<b>0.208</b>	11.7	2.3	<b>0.195</b>
Solución básica.	12cm	2.5cm	<b>0.208</b>	11.7	2.3	<b>0.195</b>
Condición de oxidación.	12cm	0.5cm	<b>0.042</b>	11.7	0.45	<b>0.039</b>
Referencia.	12cm	3.5cm	<b>0.291</b>	11.7	3.4	<b>0.290</b>

Dd = Distancia del disolvente, Dm= Distancia de la muestra.

**Tabla 3.1A** Resultados de **Rf**, en Placa 1.



La siguiente (Figura 3.2) es una representación de la Placa 1. Donde el círculo morado delimita la zona de la matriz y los puntos naranja representan las zonas de Ketoconazol bajo distintas condiciones.

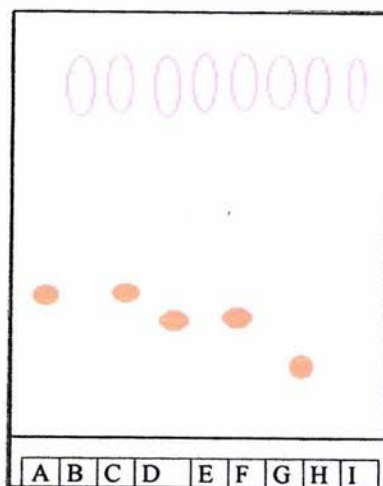


Figura 3.2 Representación de la Placa 1.

## Placa 2.

Los excipientes de los que se puede esperar una interferencia o influencia sobre la longitud de onda máxima de absorción del Ketoconazol se aplicarán en una placa, siguiendo la preparación de las soluciones presentadas en la tabla 2.5, además de ser leídas en el equipo UV/visible.

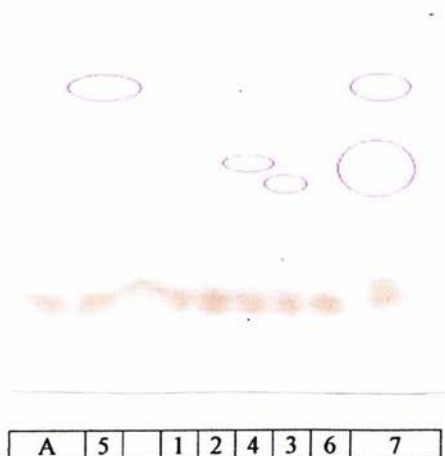
Tipo.	Dd.	Dm.	Rf <sub>1</sub>	Dd.	Dm.	Rf <sub>2</sub>
Propilenglicol	12.5	-----	----	12.0	-----	----
Alcohol cetoestearílico	12.5	-----	----	12.0	-----	----
Metilparabeno	12.5	9.5	<b>0.760</b>	12.0	9.3	<b>0.775</b>
Propilparabeno.	12.5	10.0	<b>0.800</b>	12.0	9.8	<b>0.816</b>
Vitamina E	12.5	11.9	<b>0.952</b>	12.0	11.3	<b>0.941</b>
Mentol.	12.5	-----	----	12.0	-----	----
Ketoconazol	12.5	3.6	<b>0.288</b>	12.0	3.5	<b>0.291</b>

Dd = Distancia del disolvente, Dm= Distancia de la muestra.

Tabla 3.1B Resultados de Rf en la Placa 2.

En todas las soluciones, existe una mancha que, corre a una distancia igual a la solución de referencia (Ketoconazol + cloroformo). Los tres  $R_f$  que se muestran no corresponden al ketoconazol si no a Metilparabeno, propilparabeno y a la vitamina E, los tres compuestos muestran en su estructura dobles ligaduras conjugadas, por lo que absorben en la región UV/visible, los demás como se esperaba, no se pueden ver dado que su estructura no presenta estas dobles ligaduras conjugadas.

La figura 3.2 es una cromatoplaca, la cual muestra una zona café la cual representa la zona de Ketoconazol, los círculos morados delimitan la zona donde se encuentran, de izquierda a derecha: Vitamina E, Metilparabeno, Propilparabeno. Finalmente en el extremo derecho al final de la placa se muestran tres zonas, de abajo hacia arriba: La zona de Ketoconazol, zona de los Conservadores y la última del Antioxidante. Los números debajo de la imagen representan el número de solución, según la tabla 3.3.



**Figura 3.3** Cromatoplaca (Placa 2).

Los excipientes de los que se puede esperar una interferencia o influencia sobre la longitud de onda máxima de absorción del Ketoconazol serán leídas en un espectrofotómetro en un rango de 270 a 320 nm, con lo que se obtienen las siguientes absorbancias:

La siguiente tabla 3.2, muestra las absorbancias obtenidas a partir de las diferentes soluciones, según la tabla 2.5.

Solución	Abs1	Abs2
1	0.689	0.690
2	0.691	0.690
3	0.689	0.691
4	0.689	0.691
5	-----	-----
6	0.689	0.692
7	-----	-----
A	0.690	0.691

**Tabla 3.2** Absorbancias (Abs) medidas.

La absorbancia esperada es de aproximadamente es de 0.690 para una concentración de 0.0002g/mL de Ketoconazol en cloroformo, no existe una gran diferencia, entre la referencia A y las demás soluciones, con excepción de la solución 5, la cual contiene vitamina E y la solución 7, que contiene todos los excipientes, así el excipiente que interfiere en la medición de Ketoconazol es la vitamina E, lo cual es comprensible debido a que las soluciones donde se encuentra presente, simplemente no presenta ningún pico máximo de absorción. Sin embargo gracias a la técnica de Cromatografía en capa delgada lograremos una buena separación de la vitamina E, propilparabeno y metilparabeno, así como para los demás excipientes.

### 3.3 Linealidad del Sistema

A continuación se muestran las Absorbancias, obtenidas a partir de 5 diferentes concentraciones (Tabla 3.3), por triplicado, así como los resultados obtenidos a partir de los cálculos para  $r$ ,  $r^2$  y CV.

conc mg/mL	abs S1	abs S2	abs S3
0.00012	0.404	0.405	0.404
0.00016	0.553	0.554	0.554
0.0002	0.692	0.689	0.691
0.00024	0.823	0.826	0.841
0.00028	0.963	0.961	0.966

**Tabla 3.3** Resultados de las absorbancias para el cálculo de la Linealidad del Sistema.

A continuación se muestran los resultados de los cálculos para los parámetros de  $r$ ,  $r^2$  y Coeficiente de Variación.

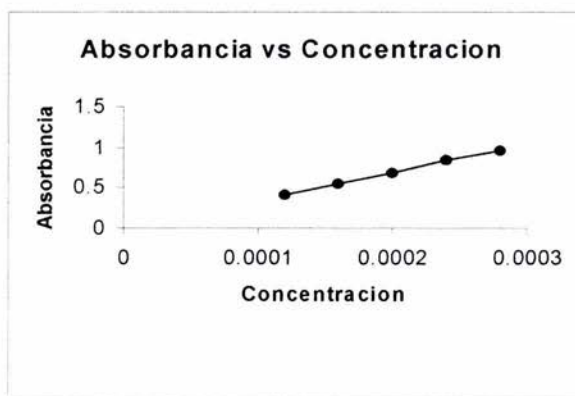
$\Sigma X$	0.003
$\Sigma Y$	10.326
$\Sigma Y^2$	7.692096
$\Sigma X^2$	0.000000648
$\Sigma XY$	0.00223252

$r$	0.99963332
$r^2$	0.99926678

F1	F2	F3
3366.66667	3375	3366.66667
3456.25	3462.5	3462.5
3460	3445	3455
3429.16667	3441.66667	3504.16667
3439.28571	3432.14286	3450

$\Sigma F$	51546
$\Sigma F^2$	177153869
<b>Fprom</b>	3436.40079
<b>DE</b>	38.8334803
<b>CV</b>	1.1300626

La gráfica 3.1 muestra la relación, entre concentración y absorbancia.



\* Datos promedio a partir de la Tabla 3.3, Para la Linealidad del sistema

**Gráfica 3.1** Relación Lineal Absorbancia dependiente de la Concentración.

Se demostró, en un rango de concentraciones de 0.00012 g/mL a 0.00028 g/mL de muestra referencia de Ketoconazol. Obteniendo una gráfica Absorbancia en función de la Concentración tiene las siguientes características: Un Coeficiente de Correlación de 0.99, y

un Coeficiente de Variación de **1.13%**, los parámetros están dentro de las especificaciones para la Linealidad del Sistema, demostrando que con el sistema utilizado la Absorbancia y la Concentración tienen una reciprocidad dentro del rango de concentraciones medidas.

### 3.4 Precisión del Sistema.

Para demostrar la Precisión del Sistema se muestran los resultados de absorbancias, a partir de una misma Solución Stock, de una sola concentración de 0.0002 g/mL, medida por sextuplicado. También se muestran los resultados de los cálculos para el Coeficiente de Variación.

Solución	Abs.
1	0.680
2	0.691
3	0.690
4	0.691
5	0.692
6	0.690

$\Sigma Y$	4.143
$\Sigma Y^2$	2.860747
$Y_{prom}$	0.6905
<b>DE</b>	0.10488088
<b>CV</b>	0.15189122

Así se obtienen el Coeficiente de Variación de 0.15%, entra dentro del rango de la especificación para la evaluación de Precisión del Sistema, lo que quiere decir que usando el mismo equipo debes obtener datos comparables.

### 3.5 Exactitud.

Para la evaluación del presente parámetro se muestran los resultados (Tabla 3.4A) de absorbancias, para tres diferentes concentraciones, por triplicado, así como los porcentajes de recobro en la tabla 3.4C. La tabla 3.4B muestra cantidades adicionadas y recuperadas.

%	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
80	0.541	0.544	0.555
110	0.735	0.752	0.738
120	0.815	0.816	0.799

**Tabla 3.4A** Absorbancias obtenidas para tres diferentes cantidades de Ketoconazol agregadas.

CA 1	CR 1	CA 2	CR 2	CA 3	CR 3
159	156.968978	148	146.919708	160	162.043796
215	208.476253	218	216.274406	228	221.984169
245	241.444982	238	234.834341	242	233.80653

\* Cantidad adicionada CA, Cantidad recuperada CR.

**Tabla 3.4B** Cantidades adicionadas y cantidades recuperadas.

%Recobro 1.	%Recobro 2.	% Recobro 3.
98.7226277	99.270073	101.277372
96.9656992	99.2084433	97.3614776
98.5489722	98.6698912	96.6142684

**Tabla 3.4C** Porcentajes de recobro para las diferentes cantidades de Ketoconazol adicionado.

A continuación se muestran los resultados de los cálculos  $r^2$  y Coeficiente de Variación para demostrar la Exactitud del Método.

$\Sigma X$	1853
$\Sigma X^2$	393751
$\Sigma Y$	1822.71356
$\Sigma Y^2$	380105.1309
$\Sigma XY$	386837.571

$r$	0.998130402
$r^2$	0.9962643

$\Sigma R$	886.638825
$\Sigma R^2$	87363.5943
<b>Rprom.</b>	98.51542498

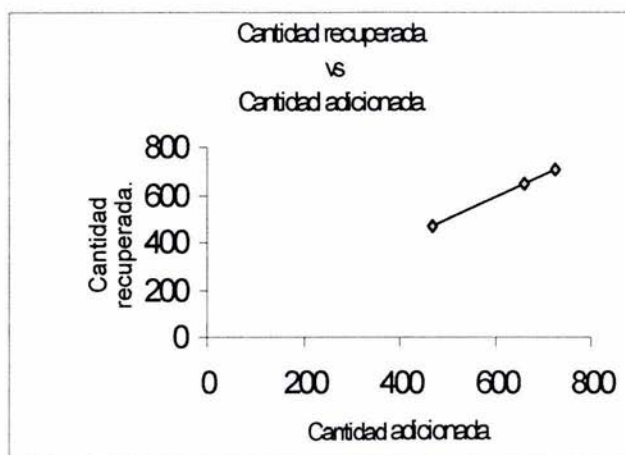
<b>DE</b>	1.418347619
<b>CV</b>	2.042002537

La gráfica 3.2 muestra la relación entre cantidad recuperada en función de la cantidad adicionada.

La Tabla 3.4D Muestra los datos Tabulados.

Cantidad adicionada promedio.	Cantidad recuperada promedio
467	465.932482
661	646.734828
725	710.085852

**Tabla 3.4D** Datos tabulados promedio a partir de la tabla 3.4C.



**Gráfica 3.2** Relación entre cantidad recuperada en función de la cantidad adicionada.

Tanto la **Exactitud** del método, como el **Rango** (linealidad del método), se pueden evaluar de manera conjunta. El Coeficiente de Variación que se obtiene es de 2.0% y el porcentaje de recobro es en promedio de 98.5%, cumpliendo con los requerimientos preestablecidos en las especificaciones de validación. Por lo que el método es Exacto en un Rango de concentración de 80 – 120 % de principio activo Ketoconazol.

### 3.6 Reproducibilidad.

La tabla 3.5A muestra los resultados, obtenidos a partir de la evaluación del método analítico hecho por dos analistas, por duplicado, en dos diferentes días usando producto terminado.

Absorbancia.	ANALISTA. 1	ANALISTA. 2
<b>DIA</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>1</b>	0.673	0.645
	0.678	0.667
<b>2</b>	0.679	0.672
	0.677	0.678

**Tabla 3.5A** Resultados de Dos diferentes analistas, en dos diferentes días, por duplicado, usando producto terminado.

La tabla 3.5B Muestra los resultados del porciento de recobro.

% recobro.	ANALISTA. 1	ANALISTA. 2
<b>DIA</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>1</b>	97.8197674	93.75
	98.5464116	96.9476744
<b>2</b>	98.6918605	97.8744186
	98.4011628	98.5465116

**Tabla 3.5B** Resultados del Porciento de Recobro.

A continuación se muestran los resultados de los cálculos para el Coeficiente de Variación para la evaluación de la Reproducibilidad.

$\Sigma Y$	5.369
$\Sigma Y^2$	3.604165
$Y_{prom}$	0.671125
<b>DE</b>	0.0113066
<b>CV</b>	1.68472395

A continuación se muestran los resultados de los cálculos para una prueba ANOVA, aplicada al parámetro de Reproducibilidad.



$F_a \leq F_{gla}$	H0: El método analítico es reproducible por los analistas.
$F_a \geq F_{gla}$	H1: El método analítico no es reproducible por los analistas.
$F_d \leq F_{gld}$	H0: El método analítico es reproducible en distinto días por un mismo analista.
$F_d \geq F_{gld}$	H1: El método analítico no es reproducible en distinto días por un mismo analista.

Y analista , día.	Suma
Y1,1	196.366179
Y1,2	196.9475744
Y2,1	190.6976744
Y2,2	196.4209302

Suma Y del analista 1 (Y1) = 393.3137534

Suma Y del analista 2 (Y2) = 387.1186046

Suma de Y resultados de analistas 1 y 2 (Y) = 780.432358

Sumatoria de la Suma de Cuadrados de Y resultados de analistas 1 y 2 ( $\sum \sum Y_i^2$ ) = 152294.8082

Suma Y resultados del analista 1 y 2 al cuadrado ( $\sum Y^2$ ) = 304556.5226

Suma de cada resultado elevado al cuadrado ( $\sum \sum Y_{ijk}^2$ ) = 76181.70514

Suma de cuadrados del analista ( $\sum Ca$ ) = 4.79747

Suma de Cuadrados del día ( $\sum Cd$ ) = 8.27345

Suma de Cuadrados del error ( $\sum ce$ ) = 34.30104

La siguiente es una tabla 3.6 que muestra: Variación , analista , Suma de Cuadrados, F calculada y teórica.

Variación.	GL	SC.	Fc.	Ft.
Analista.	1	4.799747	<b>Fa</b> 1.159726595	38.51
Día.	2	4.136725	<b>Fd</b> 0.482402282	10.65
Error.	4	8.57526	-----	-----

\*GL= Grados de Libertad, SC = Suma de Cuadrados, Fc = F calculada, Ft = F teórica.

**Tabla 3.6** Resultados para conclusión de la prueba estadística ANOVA.

\* Los valores de  $F$ ,  $\alpha = 0.05$   $v_1$ ,  $v_2$ , los valores teóricos se obtienen según los grados de libertad.

La  $F$  calculada,  $F_a$ , es menor a la  $F$  teórica, por lo que el método es Reproducible por dos analistas

La  $F$  calculada,  $F_d$ , es menor a la  $F$  teórica, por lo que el método es Reproducible en dos días por un mismo analista.

La prueba ANOVA es una herramienta más para concluir respecto a la Reproducibilidad.

La Reproducibilidad, se calcula el Coeficiente de Variación, el cual es de 1.68%, la muestra fue analizada por duplicado, por dos analistas diferentes en dos días diferentes. Este parámetro cumple con el requerimiento de la guía de validación, por lo que el método es Reproducible. Además se anexan los resultados de la prueba ANOVA, la cual recalca que el método es reproducible por dos analistas y que el método es repetible por un analista en dos días diferentes.

## CAPITULO 4

### CONCLUSIONES.

En el mercado actual del tratamiento de micosis superficiales existen muchísimas opciones y la demanda es tal que empresas de la talla de Bayer, Schering Plough, Aventis o Novartis, por solo nombrar algunos laboratorios importantes, tienen líneas de productos para el tratamiento de micosis superficiales, por lo que el consumidor debe conocer y probar esta nueva opción para tratamiento y profilaxia del pie de atleta.

En el presente trabajo se logró obtener una suspensión de aplicación tópica antimicótica, la cual contiene Ketoconazol como principio activo. Esta formulación es de color blanco, sin grumos, olor a mentol, buena humectación y acción refrescante. Se recomienda que su aplicación sea por las noches, después de lavar y secar la zona afectada, la razón principal de esta recomendación se debe a que de esta manera el tiempo de exposición del principio activo sobre la piel será mayor.

Algunos hechos importantes para desarrollar un nuevo producto que tenga acción antimicótica son:

- La aplicación de una pomada es incómoda debido a que no solo se queda en la planta de los pies si no también en la palma de las manos la sensación es pegajosa y quedan residuos blancos en las manos que solo remueves con agua o con un papel.
- Los talcos son una opción clásica y muy buena, pero se desperdicia a la hora de aplicarlo sobre la planta de los pies y a veces se queda en la ropa y es difícil de sacudir, principalmente de la ropa negra.
- El mercado es muy amplio.

Talco Líquido de Ketoconazol :

- Deja una sensación refrescante.
- Tiene una muy buena humectación.
- No es pegajoso.
- Es de secado rápido.
- No es una formulación complicada.
- Su proceso de fabricación es muy sencillo.

Con estas características Talco Líquido de Ketoconazol ofrece una opción más al consumidor que es quien decide si el producto continúa o no en el mercado.

El nombre de Talco Líquido de Ketoconazol no es porque esté presente el talco, es debido a que existen formulaciones cosméticas cuyos nombres son Talco Líquido, ya sea con el nombre de "Avental", "Bate and Body Works" o "Davidoff Cool Water Aquatics", los cuales tampoco contienen la materia prima en cuestión, sin embargo es la fórmula del producto cosmético sobre la cual se sostiene el presente estudio. Por lo que Talco líquido de Ketoconazol es un nombre provisional.

El desarrollo de un producto va de la mano con el control de calidad del mismo. En este caso el poder cuantificar el principio activo Ketoconazol asegura que la dosis terapéutica exista en la suspensión, además de corroborar que no exista contaminación por algún otro principio activo o por productos de degradación de la molécula de Ketoconazol. La cuantificación permitirá la evaluación de producto terminado así como la evaluación de estudios de estabilidad acelerada o estabilidad a largo plazo. Así se logró obtener un método barato y rápido que cuantifica Ketoconazol en la suspensión. El método fue validado evaluando: especificidad, linealidad del sistema, precisión del sistema y exactitud.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Madigan, Martinko y Parker, "Biología de los Microorganismos", Editorial Prentice Hall, España, 1998, Octava Edición, pp. 774 – 780.
- 2) Dr. Alejandro Bonifaz, "Micología Médica Básica", Méndez Editores S.A de C.V, México, 2000, Segunda Edición, pp. 9-13, 35-59 y 72-81.
- 3) Lachman, "The theory and practice of industrial pharmacy", USA 1986, Tercera edición, pp 534- 544.
- 4) García Romero Edgar, "Suspensión Astringente de Calamina", Tesis 2003, Facultad de Química, UNAM, campus C.U, pp 4 – 31.
- 5) Goodman and Gildman "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", Editorial Mac Graw Hill Interamericana, México 1996, Novena Edición, pp. 678 – 698.
- 6) Ralph J. Fessenden, "Química Orgánica", Grupo Editorial Iberoamericana, México, 1983, pp 924-931.
- 7) Gilchrit, "Química Heterocíclica", Editorial Addison Wesley Interamericana, México, 1995, Segunda Edición.
- 8) Skiba, Marchois, Duclos and Arnaud, "Stability Assesment of Ketoconazole in Aqueous Formulations", International Journals of Pharmaceutics, USA, 2000, volume 198.
- 9) Clarkes, "Isolation and Identification of Drugs", USA, 1998, pp. 696-697.
- 10) "The Index Merk", Editorial Merk and Co Inc, USA, 1976, Novena Edición.

- 11) "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas", Ediciones PLM S.A de C.V, México, 1997, pp. 150.
- 12) "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas", Ediciones PLM S.A de C.V, México, 2001, pp. 152.
- 13) James C. Boyland, "Pharmaceutical Technology", USA, 2002, Volume 3, pp. 2654-2667 y 2917-2930.
- 14) Remington, Farmacia, 19ª Edición, 1995, Editorial médico Panamericana, Buenos Aires Argentina, pp 1735 – 1748, 2291-2308.
- 15) Roman E. Innovación y desarrollo farmacéutico, Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C., México D.F., pp 246-295.
- 16) Earias B.V.A. "Desarrollo de una solución en spray de Clorhidrato de Lidocaina y cloruro de Cetil Piridinio", Tesis 2003, Facultad de Química, UNAM, campus C.U, pp 20.
- 17) Raquel Colin Lopez, "Validación de un método Analítico para determinar Ketoconazol en Crema", Tesis, México 2002, Facultad de Química, UNAM, CU.
- 18) Handbook of pharmaceutical excipients, The pharmaceutical society of great Britain, London, 1983, pp 60, 92, 241
- 19) USP 24 "The United States Pharmacopeia ", Convention Inc, USA, 2001, pp 273-274, General Information 1225.
- 20) Shein – Chung Chow, Jen Pei Liu, Marcel, "Statistical Design and Analysis in Pharmaceutical Science Validation, Process, Controls and Stability", Marcell Dekker Inc, USA, 1995, pp 235-270 y 118-149.

- 21) Roberto Barrios, "Desarrollo, optimización y desarrollo de un método analítico para determinación de un analgésico y un rubefaciente en un medicamento genérico, por HPLC.", Tesis 2003, Facultad de Química, UNAM, campus C.U, pp 16-23.
- 22) Cecilia García, "Desarrollo y validación de un método analítico para cuantificar Naproxeno de Naproxenilo en solución, por HPLC.", Tesis 2003, Facultad de Química, UNAM, campus C.U, pp 19-23.
- 23) Guías Oficiales de Validación de la Dirección General de Control de Insumos para la Salud, Secretaría de Salud, México 1991.
- 24) Harmonised Tripartite Guideline, "Validation of Analytical Procedures Methodology", USA, 1996.
- 25) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Salud, Comisión permanente de la FEUM, México, 2000, Séptima Edición, pp. 830-831.
- 26) Centro de investigación y desarrollo de medicamentos (CIDEM), "Validación del método de análisis del ungüento transdérmico de nitroglicerina 2%", México 2003, Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, Asociación Farmacéutica Mexicana Volumen 34, número 1.
- 27) Antignac, Bizec, Monteau, Andre, "Validation of Analytical methods based on Mass Spectrometric Detection according to the "2002/657/EC" European decision: guideline and application", Analytica Chimica Acta, USA, 2002, volume 198.
- 28) Gilbert H. Ayres, "Análisis Químico Cuantitativo", México, 1970, Editorial Harla, Segunda Edición, pp 184-186.
- 29) Bauer "Instrumental Analysis", Allin and Bacon Inc., USA, 1978, pp. 154-175.

## APENDICE I.

### CALCULOS.

#### Linealidad del Sistema.

x = Concentración de la disolución Patrón.

y = Propiedad Medida.

n = Número de réplicas de cada disolución de la solución patrón.

t = número de disoluciones

#### 1) Cálculos para el Coeficiente de Correlación.

$$\Sigma x = n (x_1 + x_2 + \dots + x_t)$$

$$\Sigma y = (y_1 + y_2 + \dots + y_n)$$

$$\Sigma x^2 = n (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)$$

$$\Sigma y^2 = y_1^2 + y_2^2 + \dots + y_n^2$$

$$\Sigma xy = x_1 (y_1)^* + x_2 (y_2)^* + \dots + x_t (y_t)$$

\* y por triplicado, se suman las "y" y se multiplican por x.

$$r^2 = \frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

#### 2) Cálculos Para el Coeficiente de Variación.

$$F = \frac{\text{Propiedad medida (y)}}{\text{Concentración de la disolución de la solución patrón (x)}}$$

$$\Sigma F = F_1 + F_2 + \dots + F_n$$

$$\Sigma F^2 = F_1^2 + F_2^2 + \dots + F_n^2$$

$$F_{prom} = F/N$$

N= número de puntos de la Linealidad del Sistema.

$$DE^2 = \frac{N(\Sigma F^2) - (\Sigma F)^2}{N(N-1)}$$

$$CV = (DE / F_{prom}) * 100$$



**Presición del Sistema.**

y = Propiedad Medida.

$$\Sigma y = (y_1 + y_2 + \dots + y_n)$$

$$\Sigma y^2 = y_1^2 + y_2^2 + \dots + y_n^2$$

$$y_{prom} = \Sigma y / N$$

$$DE^2 = \frac{N(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2}{N(N-1)}$$

$$CV = (DE / y_{prom}) * 100$$

**Linealidad del Método.**

x = Concentración de la disolución Patrón.

y = Propiedad Medida.

n = Número de réplicas de cada disolución de la solución patrón.

t = número de disoluciones

**1) Cálculos para el Coeficiente de Correlación.**

$$\Sigma x = n (x_1 + x_2 + \dots + x_t)$$

$$\Sigma y = (y_1 + y_2 + \dots + y_n)$$

$$\Sigma x^2 = n (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)$$

$$\Sigma y^2 = y_1^2 + y_2^2 + \dots + y_n^2$$

$$\Sigma xy = x_1 (y_1)^* + x_2 (y_2)^* + \dots + x_t (y_n)$$

\* y por triplicado, se suman las "y" y se multiplican por x.

$$r^2 = \frac{[nt(\Sigma xy) - (\Sigma x)(\Sigma y)]^2}{[nt(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2][nt(\Sigma y^2) - (\Sigma y)^2]}$$

**3) Porcentaje Recuperado.**

Para cada Cantidad Recuperada.

$$R = (y/x) 100$$

$$\Sigma R = (R_1 + R_2 + \dots + R_n)$$

$$\Sigma R^2 = n (R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_n^2)$$

$$R_{prom} = \Sigma R / N$$

$$DE^2 = \frac{N(\sum R^2) - (\sum R)^2}{N(N-1)}$$

$$CV = (DE / R_{prom}) * 100$$

### Reproducibilidad.

y = Propiedad Medida.

$$\sum y = (y_1 + y_2 + \dots + y_n)$$

$$\sum y^2 = y_1^2 + y_2^2 + \dots + y_n^2$$

$$y_{prom} = \sum y / N$$

$$DE^2 = \frac{N(\sum y^2) - (\sum y)^2}{N(N-1)}$$

$$CV = (DE / y_{prom}) * 100$$

### Cálculos de la prueba estadística ANOVA.

Suma de las condiciones Analista Día (y<sub>ij</sub>).

$$\sum y_1 = (y_{11} + y_{12} + \dots + y_{1n})$$

$$\sum y_2 = (y_{21} + y_{22} + \dots + y_{2n})$$

$$\sum y_{total} = \sum y_1 + \sum y_2$$

Suma de cuadrados de cada analista en cada día.

$$(\sum \sum y_{i,j})^2 = (y_{1,1})^2 + (y_{1,2})^2 + (y_{1,3})^2 + \dots + (y_{2,2})^2 + (y_{2,3})^2$$

Sumas de cuadrado de cada analista en cada día.

$$(\sum y)^2 = (y_{1..})^2 + (y_{2..})^2$$

Calcular la suma de cada dato al cuadrado.

$$(\sum \sum y_{i,j,k})^2 = (y_{1,1,1})^2 + (y_{1,1,2})^2 + (y_{1,1,3})^2 + \dots + (y_{2,2,1})^2 + (y_{2,2,2})^2 + (y_{2,2,3})^2$$

Calcular la Suma de Cuadrados del analista (Sca), efecto del factor analista

$$Sca = (\sum y_i^2 / dr) - (\sum y_{..}^2 / adr)$$

Calcular la Suma de Cuadrados del día anidado en el analista (Scd), efecto del factor analista, con la siguiente fórmula.

$$Scd = (\sum \sum y_{ij}^2 / r) + (\sum y_{i..}^2 / dr)$$

Calcular la Suma de Cuadrados del error (Sce), con la siguiente fórmula.

$$Sce = (\sum \sum y_{ij,k}^2) - (\sum y_{ij.}^2 / r)$$

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Fcal	Fteo
<b>Analista</b>	gla = a- 1	SCa	$MCa = \frac{SCa}{gla}$	$Fa = \frac{MCa}{MCd}$	Fgla/gld
<b>Día</b>	gld = a(d-1)	SCd	$MCa = \frac{SCa}{gla}$	$Fa = \frac{MCd}{MCe}$	Fgla/gld
<b>Error</b>	gle = (r-1) ad	Sce	$MCa = \frac{SCa}{gla}$	-----	-----

F0.05\* Los valores de F0.05 se obtienen de la tabla de F, localizando el cruce del valor de los grados de libertad (gl) del numerador horizontalmente y el valor de los grados del denominador verticalmente, para un  $\alpha=0.05$ .

Interpretación de Resultados.

$Fa \leq Fgla$	El método analítico es reproducible por los analistas.
$Fa \geq Fgla$	El método analítico no es reproducible por los analistas.
$Fd \leq Fgld$	El método analítico es reproducible en distintos días por un mismo analistas.
$Fd \geq Fgld$	El método analítico no es reproducible en distintos días por un mismo analistas.