



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DESARROLLO DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA DE KETOCONAZOL

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

Esmeralda Flores González

TUTOR

ERNESTINA HERNÁNDEZ GARCÍA

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE 2014.





Universidad Nacional
Autónoma de México



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:	Profesor: ABEL GUTIÉRREZ RAMOS
VOCAL:	Profesor: ENRIQUE AMADOR GONZÁLEZ
SECRETARIO:	Profesor: ERNESTINA HERNÁNDEZ GARCÍA
1er. SUPLENTE:	Profesor: MARÍA JOSEFA BERNAD BERNAD
2° SUPLENTE:	Profesor: MARÍA EUGENIA IVETTE GÓMEZ SÁNCHEZ

•

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA, TORRE DE INVESTIGACIONES

“DR. JOAQUÍN CRAVIOTO”, LAB. DE FARMACOLOGÍA 3 ER. PISO.

Insurgentes Sur 3700, Letra C, Col. Insurgentes Cuicuilco,

Del. Coyoacán, México D.F.

•

ASESOR DEL TEMA:

•

M. EN F. ERNESTINA HERNÁNDEZ GARCÍA

SUSTENTANTE:

•

ESMERALDA FLORES GONZÁLEZ

•

Dedicatorias

*Esta tesis está dedicada a Tí, amado Dios;
por la bendición de tenerte a mi lado,
por toda buena dádiva y don perfecto que me regalas cada día.*

A María Luisa González Romero y Jorge Flores Domínguez, mis padres por su apoyo, confianza y amor.

A mi esposo Adán López González y a mis hijos, Jonathan Adán e Ian Ricardo por donar de su tiempo para terminar este proyecto y llenar mi vida de amor.

A mi familia:

mis herman@s: Jorge Mario, Rene, Verónica y Marce, mis sobrinas Aislinn y Dessire;
a mis abues, mis ti@s y prim@s, por su apoyo, cariño y consejos, en especial a mi Titi Agustina Romero Rodríguez por su ejemplo y a la memoria de mi abuelito Hermilo.

A mis amigas y compañeras Ady, Bety, Guille y Yuri. Gracias por su valiosa amistad.

A mis amigos y hermanos en Cristo que me con su ejemplo, sabiduría y amistad me hacen conocer más a Dios. Gracias por sus oraciones y por los agradables momentos que hemos pasado juntos.



Agradecimientos

•

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**,
por la oportunidad de pertenecer al mejor equipo de nuestro país.

A la **Facultad de Química**,
por brindarme las herramientas para iniciar mi vida profesional.

A todos mis profesores por su tiempo, paciencia y dedicación durante mi formación académica.

A la M. en F. Ernestina Hernández García por dirigir este proyecto de tesis, sobre todo por su confianza y consejos. Muchas Gracias.

Al QFB David Calderón por prestarme las instalaciones de su laboratorio, gracias por todas sus atenciones.

A el profesor Abel Gutiérrez Ramos y al profesor Enrique Amador González quienes dedicaron de su tiempo en la revisión de este trabajo y aportaron sus valiosos comentarios.

A la M en I Liliana Aguilar Contreras y al IQ Joaquín Pérez Ruelas, por enseñarme una nueva forma de aplicar la química.

A mis profesores Alexandro Bonifaz y Misael González por permitirme conocer un poquito de micología.

A los laboratorios Liomont y Vita-Drug por la donación de materias primas para este proyecto de tesis.

A la QFB. Magdalena Acosta por su ayuda y orientación en el área de microbiología.

Al B. Luciano Hernández Gómez por brindarme las cepas necesarias para el estudio *in vitro*.



ÍNDICE

▪

INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS	15
CAPÍTULO 1	
ANTECEDENTES	17
1. ANATOMÍA DEL OÍDO	18
1.1 OÍDO EXTERNO	19
1.2 OÍDO MEDIO	23
1.3 OÍDO INTERNO	25
2. OTOMICOSIS	30
2.1 DEFINICIÓN	30
2.2 ASPECTOS ETIOLÓGICOS	30
2.3 ETIOLOGÍA.	31
2.4 ASPECTOS CLÍNICOS	32
2.5 MORFOLOGÍA Y SINTOMATOLOGÍA.	32
2.6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	32
2.7 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	33
2.8 TRATAMIENTO	34
2.9 PROFILAXIS	34
3. SOLUCIONES	35
3.1 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN	35
3.2 VENTAJAS DE LAS SOLUCIONES EN EL USO FARMACÉUTICO	36
3.3 DESVENTAJAS DE LAS SOLUCIONES EN EL USO FARMACÉUTICO	36
3.4 SOLUBILIDAD EN PREPARACIONES FARMACÉUTICAS	37
4. SOLUCIONES ÓTICAS	38
4.1 USOS	38
4.2 PRUEBAS FARMACOPEICAS PARA SOLUCIONES ÓTICAS	39
4.3 VEHÍCULOS Y EXCIPIENTES	40

▪

ÍNDICE

▪

5. PRINCIPIOS ACTIVOS UTILIZADOS EN LA OTOMICOSIS	41
6. KETOCONAZOL	42
6.1 NOMBRE QUÍMICO	43
6.2 FÓRMULA CONDENSADA	43
6.3 DESCRIPCIÓN	43
6.4 INDICACIONES TERAPÉUTICAS	44
6.5 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA	45
7. EVALUACIÓN QUÍMICA DEL PRINCIPIO ACTIVO	47
8. DESARROLLO DE FARMACÉUTICO	49
8.1 PREFORMULACIÓN	51
8.2 FORMULACIÓN	52
ESTABILIDAD	53
8.3 PRUEBA DE CICLADO TÉRMICO	54
9. DISEÑO DE EXPERIMENTOS	55
9.1 FACTORES Y NIVELES	56
9.2 MÉTODO DE CONTRASTES ORTOGONALES	59
9.3 ANÁLISIS DE VARIANZA	65

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL	68
1. PREFORMULACIÓN.	69
1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO.	69
1.2 ESTABILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO	77
1.3 DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO	78
1.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES.	80

▪

ÍNDICE

▪

2. FORMULACIÓN	83
2.1 DESARROLLO DE LA FORMULACIÓN	83
2.2 ORDEN DE ADICIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	85
2.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS	86
3. PRUEBA DE CICLADO TÉRMICO	91
4. PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA <i>IN VITRO</i>	93
4.1 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN CON DISCOS	93
4.2 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DILUCIÓN EN CALDO	98

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y ANÁLISIS	101
1. PREFORMULACIÓN	102
1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO	102
1.2 ESTABILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO.	106
1.3 PRUEBA DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO	108
1.4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	110
1.5 COMPATIBILIDAD DE EXCIPIENTES	110
2. FORMULACIÓN	117
2.1 DISEÑO DE LA FORMULACIÓN	117
DISEÑO DE EXPERIMENTOS	119
2.2 HIPÓTESIS	121
3. PRUEBA DE CICLADO TÉRMICO	126
4. EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i>	135
4.1 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN EN DISCO	135
4.2 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DILUCIÓN EN CALDO	138

▪

ÍNDICE

▪

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES _____ 142

ANEXOS

ANEXO 1 PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN (PNO) _____ 146

ANEXO 2 EXCIPIENTES _____ 154

ANEXO 3 GENERALIDADES DE MGA _____ 171

REFERENCIAS _____ 174

▪

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Abreviatura	SIGNIFICADO
A.	Género Aspergillus
AC	Alcohol cetílico
AE	Alcohol estearílico
Ag	Agua
AI	Alcohol Isopropílico
ATPasa	Subconjunto de enzimas que producen la hidrólisis del adenosín trifosfato en adenosín difosfato más fosforo inorgánico.
BHT	Butilhidroxitolueno
BS	Bisulfito de sodio
C	Carbono
C ₂	Genero Candida
CCF	Cromatografía en Capa Fina
Cl	Cloro
Cl-B	Clorobutanol
cm	Centímetros
Ct ₁	Control uno
Ct ₂	Control dos
CYP3A4	Citocromo P 450 de la familia del gen 3, subfamilia A y el gen individual 4
DE	Desviación estándar
DGE	Dirección General de Epidemiología
DMSO	Dimetil sulfóxido
ed	Edición
F ₀	Cociente de la suma de cuadrados de cada factor y la suma de cuadrados totales
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
Fi	Fórmula inicial
F _t	Valor de tablas de la distribución de probabilidad continua de Fisher-Snedecor
g	Gramos
GI	Glicerina
gL	Grados de libertad
H	Hidrógeno
H0	Hipótesis nula
H1	Hipótesis alternativa
k	Número de niveles de los factores en el diseño de experimentos
K	Número de experimentos mínimos a realizar en el diseño de experimentos
KOH	Hidróxido de potasio
MBS	Metabisulfito de sodio

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

MCT	Triglicéridos de cadena media (ésteres de ácidos grasos de 8-12 átomos de carbono)
mg	Miligramos
MGA	Método general de análisis
mm	Milímetros
Mp	Metilparabeno
N	Nitrógeno
<i>N</i>	Número de experimentos u observaciones totales en el diseño de experimentos
N	En la prueba de degradación del principio activo es la normalidad de la solución empleada (el número de equivalentes mol por litro de la disolución)
NOM	Norma oficial mexicana
O	Oxígeno
°C	Grados Celsius
Pf	Peso final
Pg	Propilenglicol
pH	Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa
Pi	Peso inicial
pKa	constante de acidez de una sustancia
PL	Parafina líquida
PNO	Procedimiento normalizado de operaciones
Pp	Propilparabeno
PVP	Polivinilpirrolidona
R	Número total de réplicas del experimento en el diseño de experimentos
R1	Distancia recorrida de la fase móvil en la CCF
R2	Distancia recorrida del compuesto en CCF
Rf	Factor de retraso en la CCF
S	Constante de solubilidad
SC _t	Suma de cuadrados totales en el análisis de varianza
<i>sp.</i>	Se refiere a un especie sin especificar
SS	Suma de cuadrados en el análisis de varianza
SSA	Secretaría de salud y asistencia pública de México
Tw	Tween
UV	Luz ultravioleta
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
<i>y</i>	Respuestas del diseño de experimento
Y4	Etilendiamina tetracetato de sodio (EDTA)

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Este nuevo milenio está lleno de esperanzas para la terapia, tanto de las enfermedades ya existentes como para las nuevas. En México existe poca investigación con respecto a este punto; sin embargo, es nuestra labor como especialistas de la salud informarnos e investigar acerca de la terapia y las consecuencias del uso de nuevos medicamentos introducidos al mercado.

En nuestro país existen algunas enfermedades que no se estudian a fondo, dado que la población que las padece, en su mayoría son personas marginadas que carecen de recursos o falta de información, de tal forma que la inversión empleada para la investigación de estas enfermedades es poca dentro del mercado farmacéutico; por tanto, los medicamentos para la atención de estas enfermedades son escasos o bien no existen.

Una de estas enfermedades es la Otomicosis, una infección causada por diversos hongos oportunistas como es el caso de *Candida albicans* y *Aspergillus flavus*; que afectan primordialmente el conducto auditivo externo de manera subaguda o crónica.^{1,2}

Se desconoce la frecuencia real en dermatología sin embargo, en la literatura otorrinolaringológica se señala un aumentado el número de casos reportados de otomicosis.³

La otomicosis se ha clasificado dentro de las enfermedades de otitis externas, las cuales abarcan hasta 20% de las consultas otológicas, y aproximadamente 15% de éstas corresponden a la otomicosis.^{2,3}

INTRODUCCIÓN

Según los datos publicados por la Dirección General de Epidemiología en su anuarios de morbilidad, la otitis media aguda es una de las 20 principales causas de enfermedad en la población general a nivel estatal; siendo del 1.5% de las incidencia reportadas en 2012 y ocupa el sexto lugar de las 20 enfermedades principales de nuestro país. Los estados con mayor índice de morbilidad en el 2012 fueron: Colima, Nayarit, Nuevo León, Aguascalientes y Zacatecas; estos datos pueden variar dependiendo del clima y la temporada del año.^{4,5}

En nuestro país el tratamiento de la otomicosis consiste en la administración de antimicóticos de uso tópico ya que no se cuenta con un antimicótico ótico específico para este padecimiento.^{1, 2, 6, 7}

Hasta la fecha la FDA, no ha aprobado ninguna preparación antimicótica tópica para el tratamiento de la otomicosis, por lo que muchos agentes antimicóticos son usados en este tratamiento. Para los médicos ha sido un problema por lo que no se ha podido identificar el medicamento más eficaz para este padecimiento.³

De tal forma que este proyecto de tesis tiene como finalidad desarrollar una forma farmacéutica de administración ótica en solución que actúe eficazmente contra los principales agentes causales de la otomicosis, usando como principio activo al ketoconazol. Este principio activo se utiliza como un antimicótico en crema en el tratamiento de la otomicosis; es comúnmente utilizado en pacientes inmunodeprimidos que presentan esta enfermedad y que no tienen perforado el tímpano.^{6, 7, 8, 9}

INTRODUCCIÓN

Se utilizará el diseño de experimentos como herramienta en el desarrollo de la formulación a fin de seleccionar una fórmula líquida, transparente, libre de partículas extrañas y físicamente estable. Una vez encontrada la fórmula, el producto terminado se someterá a pruebas de ciclado térmico y se observará la estabilidad de la formulación bajo condiciones ambientales de temperatura y humedad; para establecer condiciones de almacenamiento y evaluar la estabilidad del producto.

Posteriormente se valorará la actividad *in vitro* de la solución ótica para demostrar su efecto antimicótico ante los agentes etiológicos más frecuentes en este padecimiento, como es *Candida albicans* y *Aspergillus flavus*.^{1, 2, 6, 7, 8, 9}

Finalmente obtenida la fórmula que cumpla con las características deseadas de apariencia y estabilidad física; se presentará el Procedimiento Normalizado de Operaciones respectivo, que establezca la metodología para la elaboración de la solución ótica; con el fin de establecer una fórmula preliminar para el tratamiento de la otomicosis.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Desarrollar una forma farmacéutica de administración ótica con ketoconazol, utilizando como herramienta el diseño y análisis de los experimentos para encontrar una formulación preliminar para el tratamiento de otomicosis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Realizar los estudios de preformulación necesarios tales como; caracterización del principio activo, estabilidad del principio activo y compatibilidad con excipientes, con el fin de evaluar la identidad del principio activo, las condiciones químicas del trabajo y compatibilidad del ketoconazol ante distintos excipientes.
- Aplicar el Diseño de Experimentos como una herramienta para el desarrollo de la formulación con el objetivo de obtener una solución estable, transparente y libre de partículas extrañas.
- Seleccionar el material de empaque adecuado, para asegurar la estabilidad de la solución ótica durante el proceso de almacenamiento y transporte del producto terminado.
- Realizar pruebas de ciclado térmico con la fórmula propuesta para establecer condiciones de almacenamiento y la estabilidad térmica del producto.
- Comprobar el efecto antimicótico mediante estudios *in vitro* de la solución ótica contra los principales agentes causales de la otomicosis y demostrar su eficacia.
- Elaborar un Procedimiento Normalizado de Operación, con el fin de establecer las condiciones de fabricación de la solución ótica y cumplir con las especificaciones del producto terminado.

Capítulo 1

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

1. ANATOMÍA DEL OÍDO

El oído es un órgano sensorial extraordinariamente sensible que recibe y traduce ondas sonoras a impulsos nerviosos los cuales son interpretados en los centros auditivos del cerebro, además posee órganos vestibulares que son capaces de percibir la aceleración lineal o rotacional de la cabeza, generando una serie de impulsos nerviosos que permiten el mantenimiento del equilibrio corporal.^{10, 11, 12, 13}

Está formado por tres partes: el oído externo, el oído medio y el oído interno (Figura1).^{10, 11, 12, 13,}

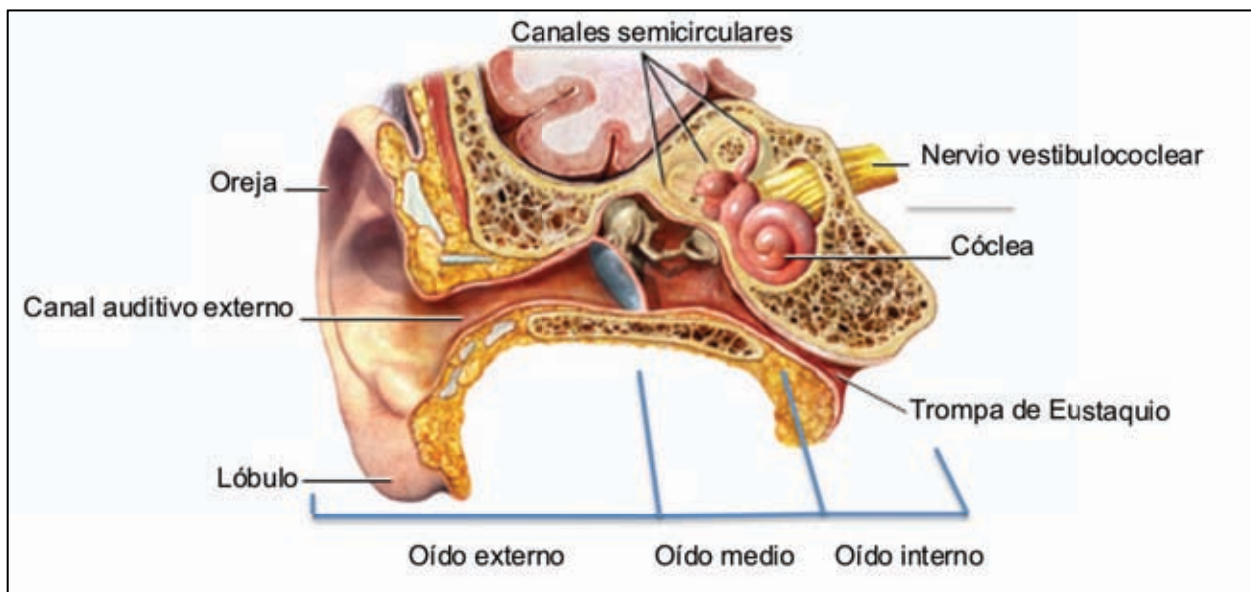


Figura 1. Dibujo adaptado de la representación esquemática de la anatomía del oído.¹⁴

ANTECEDENTES

1.1 OÍDO EXTERNO

El oído externo está compuesto por el pabellón auricular y el conducto auditivo externo; esta estructura tiene como función principal coleccionar el sonido y aumentar la sensibilidad total auditiva, actuando como transformador que incrementa la presión sonora de manera que se transmita sin pérdida importante del aire las ondas sonoras. ^{11, 12, 13}

El pabellón auricular u oreja es una lámina irregular de cartílago elástico, de 0.5 a 1.0 mm de grosor, contiene abundantes fibras elásticas, presenta algunos pelos cortos con glándulas sebáceas asociadas. Su función es la de ayuda en la localización del sonido, y los repliegues extraen la información sobre las características de transmisión de diferentes frecuencias del sonido. ^{11, 12, 13}



Figura 2. Dibujo adaptado de la representación esquemática de la oreja o pabellón auricular. ¹⁶

El conducto auditivo externo se extiende desde la oreja hasta la membrana timpánica (tímpano), con una longitud de 2.5 cm, el primer tercio externo es la continuación del cartílago auricular, mientras que los dos tercios restantes están constituidos por un canal en el interior del hueso temporal. ^{11, 12, 13}

ANTECEDENTES

La piel del conducto auditivo externo

Es muy importante mencionar como está constituida la piel del conducto auditivo ya que es la zona afectada por la otitis micótica.

La piel que lo recubre es delgada y firmemente adherida al hueso, posee numerosos pelos toscos que en el folículo se asocian a glándulas sebáceas excepcionalmente grandes, que excretan continuamente bajo control endocrino, ácidos grasos libres, ácidos grasos esterificados, colesterol, vitamina E y escualeno.^{11, 12, 13}

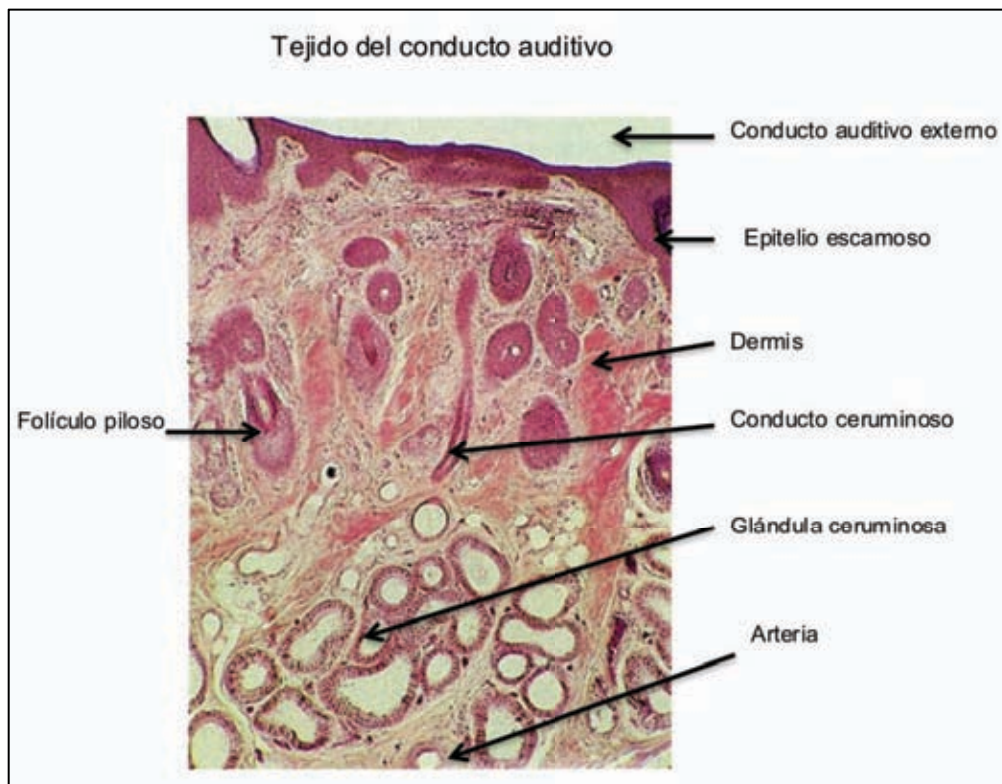


Figura 3. Microfotografía de la piel del conducto auditivo externo.¹⁶

Contiene también glándulas ceruminosas, que son un tipo especial de glándulas sudoríparas cuya secreción cerosa llamada cerumen de color marrón está compuesta de mucoproteína, lípidos, ácidos grasos y electrolitos.

ANTECEDENTES

El **cerumen** es una barrera física y actúa como capa protectora sobre el conducto auditivo externo, debido a su composición hace que el agua se disperse formando emulsiones y junto a los pelos de la piel impide la entrada de insectos al oído; también se sabe que tiene propiedades antibacterianas y antimicóticas en los hongos patógenos más comunes.^{11, 12, 13, 17}

Debido a estas secreciones acidas es normal que el pH del conducto auditivo externo, Mittal y Kumar han reportado que en condiciones normales el pH del canal auditivo externo es de 3.950 ± 1.199 (2.751-5.149).¹⁸

Kim y colaboradores, mencionan que la mayoría de los microorganismos responsables de la otitis externa y la otitis crónica supurativa se desarrollan a un pH ligeramente alcalino de 6.83 ± 0.64 (esto es de 6.19-7.47).¹⁹

Slattery menciona que la queratina, una de las proteínas que constituye principalmente a las células epiteliales descamadas por la mucosa del canal auditivo externo al tener un punto isoeléctrico de 5 ante un incremento de pH se hidrata aumenta la susceptibilidad a ser empleada como sustrato para los microorganismos. De tal forma que el pH ácido del canal es bactericida o bacteriostático para muchos microorganismos, por lo que es más saludable es que el pH sea bajo y así sea una barrera natural en la prevención de infecciones auditivas.²⁰

Otra enzima de gran importancia es la muramidasa una lisozima que es producidas por las glándulas ceruminosas del conducto auditivo externo, ya que poseen actividad antimicrobiana, que puede ser eficaz en la lisis de *Staphylococcus epidermidis* y en otros microorganismos Gram positivos presentes en la superficie de la piel del canal auditivo.²⁰

ANTECEDENTES

La membrana timpánica es oval y semitransparente con forma de cono aplanado, está formada por dos capas; la externa de fibras de colágeno con orientación radial y la capa interna de fibroblastos que tiene una forma circular, pero ambas tienen fibra elástica.^{10, 11, 12, 13,}

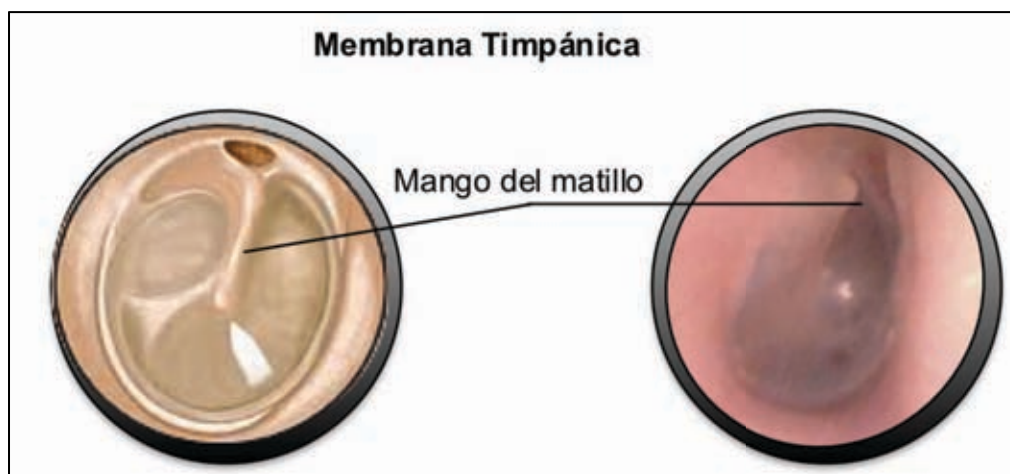


Figura 4. Dibujo y fotografía adaptadas de la membrana timpánica^{15, 19}

La capa externa está recubierta por una capa muy delgada de piel sin pelos ni glándulas y la fracción interna está revestida por la mucosa de la cavidad timpánica.^{10, 13}

Cuando el sonido llega al tímpano parte de la energía acústica se absorbe, haciendo vibrar el sistema de conducción timpanosicular y parte de la energía de la onda sonora es reflejada en función de la impedancia del medio.^{12, 13}

ANTECEDENTES

1.2 OÍDO MEDIO

Se ubica entre la membrana timpánica y el oído interno, está formado por la cavidad timpánica en donde se encuentran los huesillos auditivos y la trompa de Eustaquio. ^{10, 11, 12, 13}

La cavidad timpánica es un espacio irregular situado en el interior del hueso temporal, que está relleno de aire y recubierto de mucosa, cuyo diámetro está entre 6-15 mm, su pared está formada por la membrana timpánica y pared ósea, está revestida por epitelio plano en donde no se observan glándulas. ^{10, 12,}

Los huesillos auditivos son tres pequeños huesos; el martillo, el yunque y el estribo. Forman una cadena, que se extiende desde la pared lateral hasta la pared media de tímpano, en donde por un lado el martillo está fijado a la membrana timpánica, y por otro el estribo está fijado por un ligamento anular a la ventana oval pero ambos están conectados entre sí por el yunque. Se conectan mediante articulaciones, sostenidos por diminutos ligamentos de tejido conjuntivo. La función de los huesillos es la transferencia de energía de las ondas de presión sonora relativamente débiles que proceden del canal auditivo externo, convirtiéndolas en vibraciones más intensas. ^{10, 11, 12, 13}

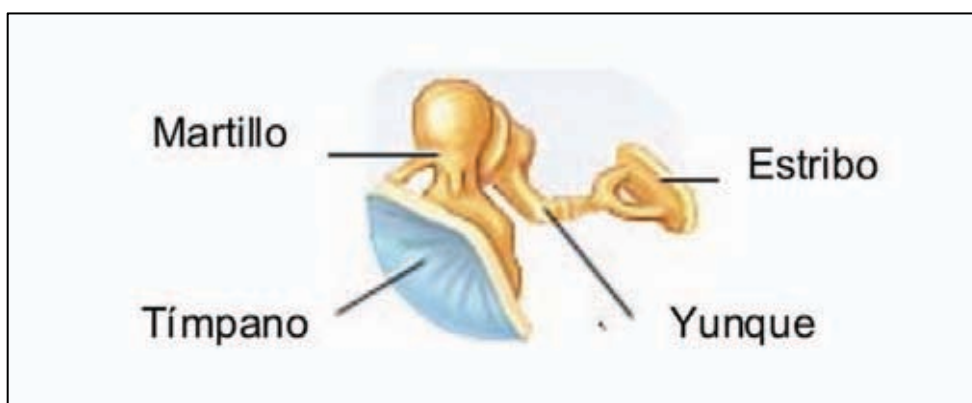


Figura 5. Representación esquemática adaptada del oído medio.²¹

ANTECEDENTES

La trompa de Eustaquio o auditiva, se encuentra por arriba, por detrás y lateralmente desde la nasofaringe hasta la cavidad timpánica. Está formada por dos porciones, una cartilaginosa y la otra porción es ósea, cubierta por una capa delgada de mucosa, compuesta por células epiteliales cilíndricas ciliadas. ^{11, 12, 13, 14}

Este conducto se encuentra normalmente cerrado, pero durante la deglución y el bostezo se abre brevemente por la contracción de los músculos palatinos adyacentes, lo que permite la entrada y salida de aire igualando la presión de la cavidad timpánica con la del exterior y protegiendo al oído de los cambios de presión. ^{11, 12, 13}

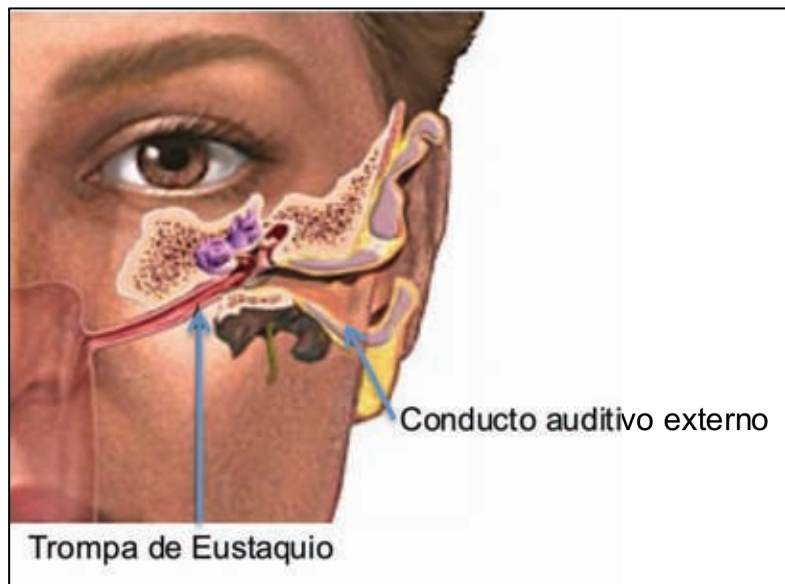


Figura 6. Dibujo adaptado de la representación del la trompa de Eustaquio y el oído. ¹⁴

Cuando la membrana timpánica vibra, el martillo vibra con ella y transmite las vibraciones a través del yunque al estribo. El estribo al estar fijado a los márgenes de la ventana oval por un ligamento anular transmite las vibraciones a la perilinfa dentro del vestíbulo. Se hace vibrar, a su vez a una membrana timpánica secundaria que cierra la ventana redonda que recibe las vibraciones transmitidas a la perilinfa. ^{12, 13}

ANTECEDENTES

1.3 OÍDO INTERNO

El oído interno está compuesto por un sistema cerrado de tubos y dilataciones membranas, llamado también laberinto membranoso y el laberinto óseo que lo recubre.^{10, 11, 12, 13}

El laberinto óseo es una cavidad irregular ahuecada cubierta con endostio y separado del laberinto membranoso por el espacio prelinfático. Está formado por los canales semicirculares, el vestíbulo y la cóclea.^{10, 11, 12, 13}

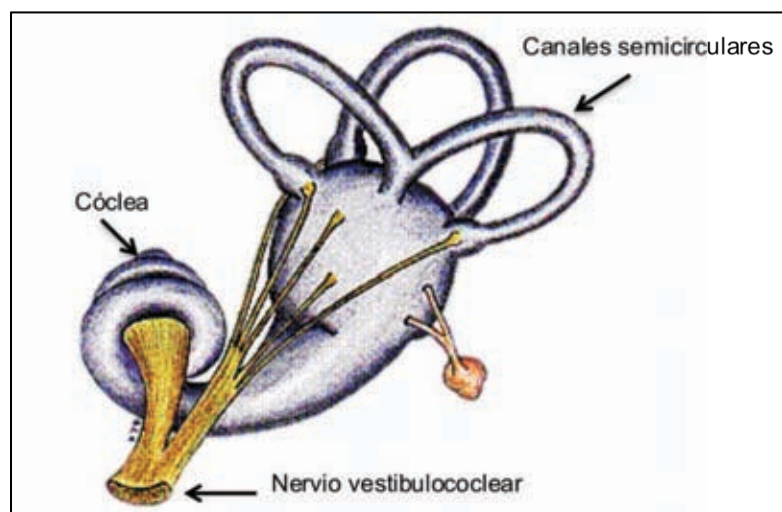


Figura 7. Dibujo adaptado de un molde del laberinto óseo con su porción colear y vestibular.²²

El laberinto membranoso en su interior tiene dos pequeñas formaciones circulares, el utrículo y el sáculo que están dentro del vestíbulo, tres conductos semicirculares que nacen del utrículo, y el conducto coclear que ocupa el canal óseo espiral del laberinto óseo, está lleno de un líquido denominado endolinfa y bañado en líquido circulante llamado perilinfa.^{11, 12, 13}

Los conductos semicirculares, tiene receptores sensoriales que responden a la aceleración de la cabeza generando impulsos nerviosos que se dirigen al cerebro.^{12,13}

ANTECEDENTES

El utrículo y el sáculo están compuestos por fibras nerviosas que responden básicamente a la aceleración lineal y angular.^{12, 14}

El caracol o cóclea, es un canal óseo espiral de 33 mm de longitud y gira 2.5 veces alrededor de una columna ósea central, el modiollo que se proyecta hacia la cóclea en espiral con un entrepaño de hueso laminado llamado lámina ósea espiral de la cual pasan vasos sanguíneos, el ganglio espiral y la porción cóclea del nervio vestibulococlear.^{10, 11, 12, 13}

Las funciones de la cóclea son: la transformación de energía sonora en un potencial bioeléctrico que estimula las terminaciones nervio auditivo y la codificación de señales acústicas para que el cerebro pueda procesar la información contenida en el estímulo sonoro, esta función lo hace a través del órgano de Corti y el nervio coclear.^{11, 12}

El órgano de Corti descansa sobre la membrana basilar en el piso de la rampa Intermedia y está recubierto por la membrana tectorial. Está formado por: las células ciliadas internas y externas, las células falángicas internas y externas; y las células pilares externas e internas.^{12, 13}

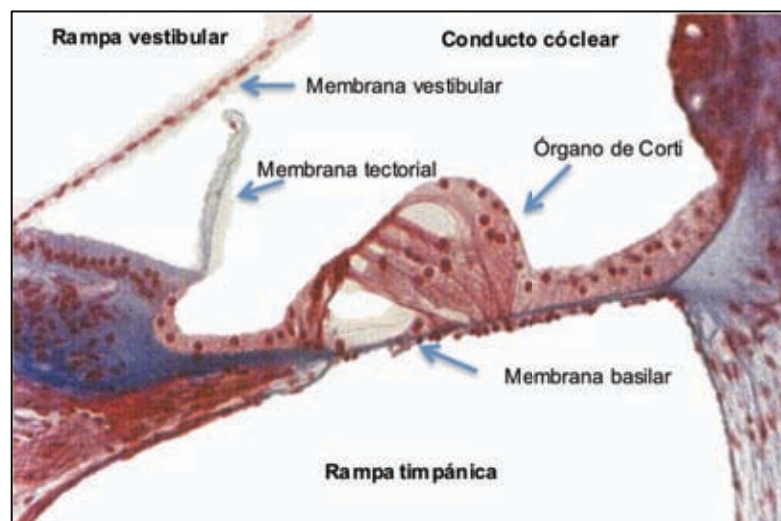


Figura 8. Microfotografía adaptada del Órgano de Corti.²³

ANTECEDENTES

Las células ciliadas Internas que se disponen en una sola fila a lo largo de todo el órgano de Corti, tienen forma de copa con estereocilio modificado en su superficie libre y poseen terminaciones nerviosas aferentes y eferentes, y las células ciliadas externas que forman tres filas y están alojadas entre las células pilares externas y las células falángicas externas, son alargadas, también poseen estereocilios modificados y están en contacto con el nervio coclear.^{11, 12, 13}

Las células falángicas externas o células de Deiters, son las células de sostén de las tres o cuatro filas de células ciliadas externas. Su base es columnar, con un extremo superior en forma de taza que está ocupado por el tercio interior de una célula ciliada.

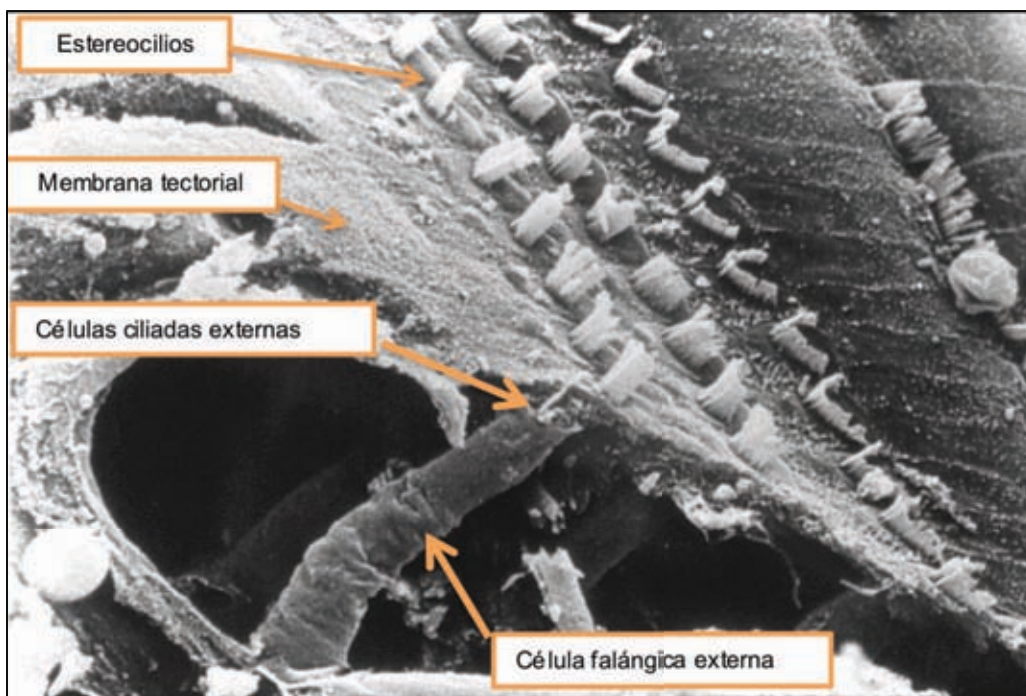


Figura 9. Microfotografía electrónica de barrido adaptada del órgano de Corti.²⁴

ANTECEDENTES

Las células Falángicas Internas se disponen en una fila en la parte interna de las células pilares internas y continúan con una fila de células delgadas. Las células del borde que se encuentran en el límite interno del órgano de Corti, arriba de las células de Hensen, adyacentes a la última fila de células falángicas externas. Las células de Hensen se disponen en varias filas que disminuyen rápidamente de altura hasta continuar lateralmente con las células de Claudius.^{11, 12, 13}

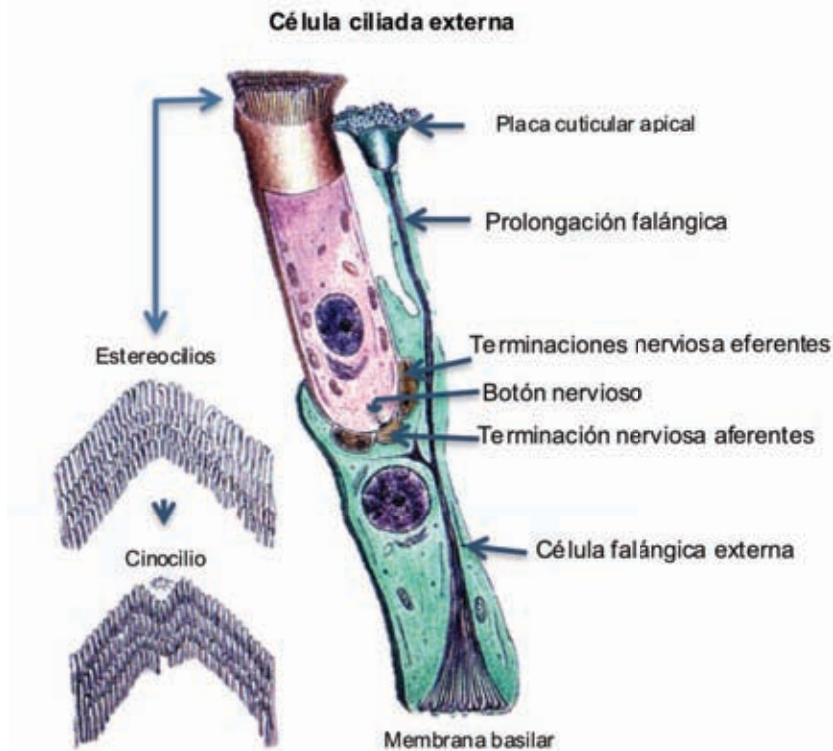


Figura 10. Dibujo de semiesquemático adaptado que muestra una célula ciliada externa.²³

Las células pilares internas muestran una ancha base que descansa sobre la membrana basilar, y un cuerpo cónico delgado que se extiende en una dirección superior. El cuerpo celular contiene al núcleo y se localiza en la zona basal, también tiene un espacio triangular llamado Túnel Interno; este espacio se continúa a lo largo de toda la Cóclea.^{11, 12, 13}

ANTECEDENTES

Las células pilares externas son más largas y muestran una orientación más oblicua, presentan una amplia y delgada base a la misma altura que la de las células pilares internas.^{11, 12, 13}

Cuando la cóclea es activada por el sonido, la escala media que es la extensión del laberinto membranoso se mueve de manera integral. Al moverse el órgano de Corti hacia arriba y abajo sobre la membrana basilar y la membrana tectorial, tira de los estereocilios de las células ciliadas externas; el movimiento del líquido en el sistema estimula a los cilios de las células internas que no están adheridos a la membrana tectorial. El estímulo llega mediante un cambio de potencial a las fibras del nervio auditivo y hacen sinapsis en la porción basal de las células ciliadas en el órgano de Corti.¹³

Todo este panorama nos indica la importancia del oído, así como su enorme capacidad de análisis y función, por lo que cualquier anomalía de este sistema tan complejo conlleva a una disminución en la calidad de vida.

A continuación describiré la otomicosis y sus características para comprender de una manera integral este tipo de infección.

ANTECEDENTES

2. OTOMICOSIS

2.1 DEFINICIÓN

Es una micosis superficial causada por diversos hongos oportunistas que afectan principalmente el conducto auditivo externo, de manera subaguda o crónica. También se le conoce como otitis externa fúngica u oído del nadador.^{1, 2, 3, 6, 7, 8, 9,25}

2.2 ASPECTOS ETIOLÓGICOS

Su distribución geográfica es de tipo cosmopolita, sin embargo tiene mayor incidencia en lugares con climas tropicales, este dato es impreciso debido a que los únicos los datos reportados por la Dirección General de Epidemiología (DGE) en México no son datos separados de la otitis media; así bien en algunos estudios se señalan una incidencia del 15 al 20% de las otitis externas en casos reportados en el Distrito Federal. Otro dato indicado a por la DGE indica que los estados más afectados por otitis media en especial la aguda son: Colima, Nayarit, Nuevo León, Aguascalientes y Zacatecas; sin embargo estos datos pueden variar de acuerdo al clima y la época del año.^{2, 4, 5,}

Puede presentarse en todas las edades teniendo predominio en jóvenes de 16 a 30 años y en adultos de 46 a 60 años. Aunque la infección no tiene afinidad a ningún sexo, se ha reportado que un 77% de pacientes son del género femenino.^{1,2, 6}

Es frecuente en personas que practican deportes acuáticos por lo que la humedad y la falta de higiene son posibles causas de esta infección.^{1, 2, 6, 7}

Un factor que contribuye a la infección por otomicosis, es el uso de utensilios usados para rascar del oído, como madera, palillos, tapones de plumas y cotonetes.²⁶

ANTECEDENTES

Otra posible causa de las infecciones otomíóticas pueden ser consecuencia del tratamiento con antibióticos y corticoesteroides utilizados en otitis bacteriana, lo que disminuye la cantidad de bacterias e incrementa el crecimiento de hongos presentes habitualmente en el oído. ^{1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 25}

Un dato importante es que la otomicosis se ha reportado con mayor frecuencia en pacientes con inmunodepresión como: diabetes, leucemia, linfoma, VIH, lupus y después de una quimioterapia o radioterapia en pacientes con algún tipo de cancer. ^{1, 2, 3, 5, 6, 9}

2.3 ETIOLOGÍA.

Los agentes etiológicos de esta infección son en su mayoría hongos filamentosos contaminantes del medio ambiente se ha reportado que el género *Aspergillus*, es el más aislado en un 63.9% de pacientes con otomicosis; sobresaliendo la especie *A. flavus* (26%) siguiendo *Candida albicans* en 26.8% y *A. niger* en 21%. ^{2, 3, 6, 7, 8, 9, 25}

En la siguiente tabla se muestran algunos hongos aislados en esta infección.

Hongos aislados en otomicosis		
<i>Aspergillus sp.</i>		
<i>A. clavatus</i>	<i>Asteromella sp.</i>	
<i>A. flavus</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>
<i>A. fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>
<i>A. niger</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>A. orizae</i>	<i>Gliocladium sp.</i>	
<i>A. terreus</i>		

Tabla 1. Agentes etiológicos aislados en otomicosis. ²

ANTECEDENTES

2.4 ASPECTOS CLÍNICOS

La otomicosis es una infección casi exclusiva del conducto externo, sin embargo excepcionalmente puede afectar el pabellón auricular o rebasar la membrana timpánica y afectar el oído medio.^{8, 9, 25}

Esta colonización se ve favorecida por las condiciones de humedad, debido a que el cerumen que cubre al canal auditivo por su naturaleza hidrofóbica, no permite la fácil eliminación del agua; esto provee de alimento a los microorganismos, lo que hace al canal auditivo un lugar óptimo de crecimiento.¹⁰

2.5 MORFOLOGÍA Y SINTOMATOLOGÍA.

El conducto auditivo se presenta edematizado con eritema y acompañado de descamación del epitelio superficial pero cuando el padecimiento se hace crónico puede llegar al capa subepitelial del oído.^{6, 7, 8, 9, 25}

La sintomatología más frecuente es prurito intenso y pocos pacientes presentan dolor y ardor. En casos crónicos o por falta de aseo del conducto externo, se forma una masa de cerumen y estructuras micóticas, que obstruye el conducto provocando hipoacusia.^{1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 25}

2.6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Es necesario diferenciar la otomicosis de una otitis bacteriana causada por *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.*, *Micrococcus sp.* y *Corynebacterium sp.*; además suele confundirse esta infección con dermatitis seborreica, impétigo, dermatitis por contacto.^{5, 6}

ANTECEDENTES

2.7 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

1) Toma de muestra:

Tomar la muestra por duplicado con una cucharilla estéril o bien hacer un exudado al paciente en los conductos externos de ambos oídos con hisopo. Colocar las muestras en un medio de transporte de Sabouraud líquido al 2% (un par de muestras es para realizar el examen directo y el otro para el cultivo).⁵

2) Examen directo:

Colocar el material colectado entre porta y cubre objetos con una gota de KOH al 10% - 30%, y observar al microscopio. El aspecto de las muestras depende del agente causal.^{5, 8, 25}

3) Cultivo:

La muestra se incuba a 28°C durante 3 días. A partir del medio líquido se siembra en cajas Petri con agar Sabouraud, posteriormente se incuba a 28°C durante 5-7 días. Se realiza una revisión periódica macro y microscópicamente de las colonias obtenidas.^{2, 6, 7}

2.8 TRATAMIENTO

1) Limpieza del conducto auditivo:

Se realiza extrayendo mecánicamente los restos de cerumen y restos celulares; posteriormente se recomienda lavados con solución de Burrow (acetato de aluminio al 5%), ácido salicílico al 2% en base de alcohol al 75% y continuar con lavados con solución salina hipertónica.^{6, 7}

Es importante resaltar que para esta micosis no se cuenta con antimicóticos óticos, por lo que se recomienda el preparar soluciones con antimicóticos de uso tópico como: anfotericina B, nistatina e imidazoles. Para una terapia sistémica se utiliza ketoconazol o itraconazol a dosis de 200 mg/día y fluconazol a 150 mg/día.^{3, 6, 7, 9, 25, 26}

Sin duda el ketoconazol en solución es una alternativa en el tratamiento de otomicosis, por lo que, en este proyecto de tesis, propongo una fórmula que podrá mejorar la terapia ante esta infección.

2.9 PROFILAXIS

La mejor medida radica en la higiene y secado adecuado, en especial en personas que mantienen constantemente húmedo el oído.^{6,7}

ANTECEDENTES

3. SOLUCIONES

3.1 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

Las soluciones son preparaciones líquidas que contienen uno o más sustancias químicas disueltas (solutos), molecularmente dispersas en el disolvente apropiado o una mezcla miscible de disolventes; estos solutos pueden estar inicialmente en estado sólido, líquido o gaseoso.^{27, 28}

Las soluciones pueden clasificarse basándose en sus propiedades físicas o químicas, el método de preparación, el uso, el estado físico, la cantidad de componentes, el tamaño de las partículas y el tipo de disolvente empleado.^{20, 27}

En la tabla siguiente se mencionan algunos ejemplos de estas clasificaciones.

Clasificación	Ejemplos:
Física	Clara, colorida u opalescente.
Química	Ácidas, básicas, etanólicas e isoiónicas, acuosas.
Método de preparación	Simples, por reacción química o extractos.
Uso	Orales, oftálmicas, óticas e inyectables.
Estado físico	Sólido en agua, líquido en líquido, gas en líquido.
Cantidad de componentes	Saturadas, no saturadas e isotónicas.
Tamaño de partícula	Verdaderas y no verdaderas (o coloidales)
Tipo de disolvente	Acuosas y no acuosas.

Tabla 2. Clasificación de soluciones.^{20, 27, 28, 29, 30}

ANTECEDENTES

3.2 VENTAJAS DE LAS SOLUCIONES EN EL USO FARMACÉUTICO

Las ventajas generales del uso de soluciones farmacéuticas son:

- 1) Las soluciones pueden ser administradas por distintas vías: como el uso oral, introducción en las cavidades corporales o aplicación externa;
- 2) La dosis puede ajustarse fácilmente mediante dilución; y
- 3) Al estar disuelto el o los principios activos tienen una velocidad más rápida de absorción.^{20, 27, 28}

Las formas farmacéuticas en solución facilita la aplicación en niños pequeños y adultos mayores dado que en esta población es difícil la administración de cualquier medicamento.

3.3 DESVENTAJAS DE LAS SOLUCIONES EN EL USO FARMACÉUTICO

Las desventajas del uso de soluciones farmacéuticas:

- 1) Las sustancias en solución son más susceptibles a inestabilidad química que las preparaciones en estado sólido y generalmente requieren de más volumen, por tanto, su peso es mayor a las formas farmacéuticas sólidas; y
- 2) Las soluciones con solventes volátiles pueden evaporarse, debido a esto es importante que el envase utilizado sea el apropiado. Deben considerarse el uso de recipientes opacos cuando hay degradación fotolítica dado que este es un problema potencial de estabilidad.^{20, 27, 28}

Al seleccionar un tipo de forma farmacéutica, se debe considerar la finalidad del fármaco, la concentración, la selección del disolvente, la estabilidad física y química, la preservación y el uso de excipientes apropiados.

3.4 SOLUBILIDAD EN PREPARACIONES FARMACÉUTICAS

Existen parámetros que afectan a la solubilidad de una sustancia que debemos tener en mente, en especial para preparaciones farmacéuticas en solución, como son: pH y pKa, concentración y cantidad de iones en solución.

El pH está definido como el logaritmo negativo en base 10 de la concentración del ion hidrógeno en una solución. En agua pura la concentración de los iones hidrógeno e hidroxilo es la misma y a 25°C tienen una concentración de 1×10^{-7} mol/L; de tal forma que el agua tiene un pH de 7, por lo que se considera un pH neutro. La escala de pH varía de 0 a 14 y expresan que una solución a pH menores de 7 es un ácido o a pH mayores de 7 es una solución alcalina. Es sumamente importante en la práctica farmacéutica considerar el efecto del pH en las disoluciones de disolventes ante principios activos ácidos o bases débiles ya que en la solubilidad puede tener un efecto sobre la estabilidad de muchos fármacos.^{28, 30}

El pKa o constante de acidez de una sustancia, expresa el pH donde la sustancia en cuestión se ioniza formando un equilibrio entre las especies químicas no- ionizadas y las ionizadas. De manera general podemos afirmar que una molécula es más soluble en estado ionizado, por lo que, se utilizan los datos de pKa y se manipula el pH para poder mejorar la solubilidad de una sustancia.^{27, 28, 31}

La concentración es la cantidad en peso del soluto disuelto en un volumen de disolvente. La importancia de este parámetro radica en tener una concentración tal que la solución sea estable físicamente con el fin de no llegar a una solución sobresaturada que provocaría la precipitación del principio activo.^{27, 28}

La cantidad de iones en solución pueden afectar o ayudar a la solubilidad de una sustancia aunque frecuentemente si la cantidad de sales hidrolizadas es muy grande, la solubilidad se abate por lo que es necesario considerar si hay alguna sal que interfiera en una formulación.^{27, 28, 31}

4. SOLUCIONES ÓTICAS

En términos farmacéuticos las soluciones son clasificadas considerando la ruta de administración como: oral, tópica, parenteral, respiratoria, rectal, nasal, ótica y oftálmica.^{20, 27, 28}

Las soluciones óticas son las destinadas para su administración en el espacio externo del oído, algunas veces se denominan preparaciones aurales.^{27, 28}

Dentro de las formulaciones para el uso ótico, las administradas en el espacio externo del oído, se encuentran: las soluciones, suspensiones y cremas. Las soluciones son las utilizadas con mayor frecuencia.

Los fármacos administrados en el canal auditivo externo por su aplicación directa, son usados casi exclusivamente por su efecto local. Sin embargo, la administración sistémica es necesaria para condiciones en donde se afecta el oído medio y el interno.

El método ideal para la administración del fármaco dentro del canal auditivo es la aplicación directa, dado que la superficie del canal es plegada con una capa delgada de cerumen, por lo que esta región puede ser tolerante a la mayoría de los fármacos y sustancias químicas.^{3, 20}

4.1 USOS

Las preparaciones de uso ótico pueden subdividirse en:

- Productos cerumenolíticos, cuya acción es la descamación normal de la capa epitelial del canal auditivo externo; y
- Los agentes antisépticos, antimicrobianos y antimicóticos, que actúan contra las diversas infecciones auditivas.^{20, 31}

ANTECEDENTES

4.2 PRUEBAS FARMACOPEICAS PARA SOLUCIONES ÓTICAS

Las pruebas realizadas en el control de calidad para las soluciones óticas son:

- 1) Aspecto de la solución;
- 2) Variación de volumen;
- 3) Cantidad de agua;
- 3) pH;
- 4) Esterilidad;
- 5) Ensayos de Identidad; y
- 6) Valoración del principio activo.^{29, 30}

4.3 VEHÍCULOS Y EXCIPIENTES

Las preparaciones óticas deben ser manufacturadas con vehículos no acuosos o miscibles en agua como la glicerina o el propilenglicol en forma anhidra, que no permiten el crecimiento bacteriano y pueden mezclarse con el cerumen en el oído; además de permitir mayor tiempo de contacto entre el fármaco y el tejido del oído debido a su viscosidad.^{27, 28, 31}

Otra cualidad de estos vehículos es que son higroscópicos, por lo que retienen agua reduciendo la inflamación y disminuyendo la humedad necesaria para la vida de los microorganismos dentro del conducto auditivo. Debido a lo anterior no es necesario la utilización de agua dentro de la formulación; sin embargo en el mercado se observa una gama de preparaciones óticas (soluciones, suspensiones y cremas) que poseen agua dentro de su formulación.^{20, 27}

La adición de un surfactante es deseable para promover la mezcla de la solución con la secreción de los aceites de las glándulas sebáceas y cerosas; tal es el caso de soluciones acuosas que contienen surfactantes como los polisorbatos.^{20,21, 28, 31}

Entre otros disolventes utilizados se encuentran el etanol, alcohol isopropílico y el alcohol polivinílico, los cuales también se utilizan como vehículos en proporciones de hasta un 70%.^{20, 27}

Los conservadores son utilizados para inhibir la contaminación microbiana, los más frecuentes para esta forma farmacéutica son: clorobutanol (0.5%), timerosal (0.01%), y combinaciones de parabenos.^{20, 27, 28}

Otras sustancias empleadas dentro de las formulaciones óticas, son los antioxidante, como: metil y propil parabeno, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, BHT y EDTA.^{20, 27, 28}

ANTECEDENTES

Se recomienda que el pH de las soluciones óticas sea ácido debido a que algunos estudios sugieren que un aumento en el pH influye directamente en la proliferación de microorganismos, sin embargo se ha encontrado que suele utilizarse gotas óticas con un intervalo de pH de 2.89 a 7.83 que son eficaces en el tratamiento de otitis externa.³² Suelen utilizarse estabilizantes de pH, como los sistemas de buffer, como pueden ser ácido cítrico-citrato (pH 2.5-6.0), ácido fosforito-fosfato (pH 6.0-8.2).^{20, 27, 28}

En el Anexo 2 se mencionan algunas de las características más importantes de los excipientes utilizados en este proyecto de tesis.³³

5. PRINCIPIOS ACTIVOS UTILIZADOS EN LA OTOMICOSIS

Como ya se mencionó anteriormente, el tratamiento común de la otomicosis consiste en el empleo de preparaciones que no son destinadas para el oído, es decir, están indicadas para otro tipo de micosis como la tiña del cuerpo o del pie; de tal forma que estos productos están diseñados para un estrato córneo con diferentes características.

En la terapia contra la otomicosis se ha reportado que se utilizan fármacos como: anfotericina B, nistatina, violeta de genciana, timerosal e imidazoles.^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9}

Estos antimicóticos juegan un papel muy importante; no obstante dadas las condiciones cerosas del conducto auditivo externo, la violeta de genciana y el timerosal son de uso poco frecuente. Por otro lado la nistatina y la anfotericina B son sumamente caros; además son normalmente recomendados para una terapia sistémica. Por el contrario los imidazoles son los más empleados para la terapia de esta infección, sin embargo, no en una forma farmacéutica de aplicación ótica.^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 20, 25, 26, 31}

Debido a lo anterior el uso del ketoconazol, que es un derivado de los imidazoles, y que tiene como ventajas ser muy barato y poseer un amplio espectro ante muchos agentes causales del padecimiento de la otomicosis puede utilizarse para formular una solución ótica para uso local con fácil aplicación y bajo costo para el paciente.

ANTECEDENTES

6. KETOCONAZOL

El ketoconazol es un antimicótico de amplio espectro, derivado de tipo imidazólico; fue el primero de los compuestos imidazólicos utilizado por vía oral. Fue sintetizado en 1977 y presentó grandes avances dentro de la terapéutica antimicótica.³⁴

La actividad antimicótica de los imidazoles fue descubierta en 1944 con el bencimidazol, en los siguientes años los investigadores hicieron una serie de modificaciones a la molécula central (imidazol), dando como resultado compuestos como el tiabendazol, miconazol, clotrimazol, tiabendazol, clotrimazol y miconazol.^{34, 35}

Dentro de estos imidazoles, el ketoconazol, tiene una serie de propiedades como son: amplio espectro, síntesis relativamente sencilla, vía fácil de administración (oral) y en comparación con otros antimicóticos pocos efectos colaterales. Fue introducido al mercado mexicano en 1980 y se emplea en la mayoría de las instituciones públicas de salud, como un tratamiento de cuadro básico.³⁵

La siguiente figura muestra la estructura química del ketoconazol:

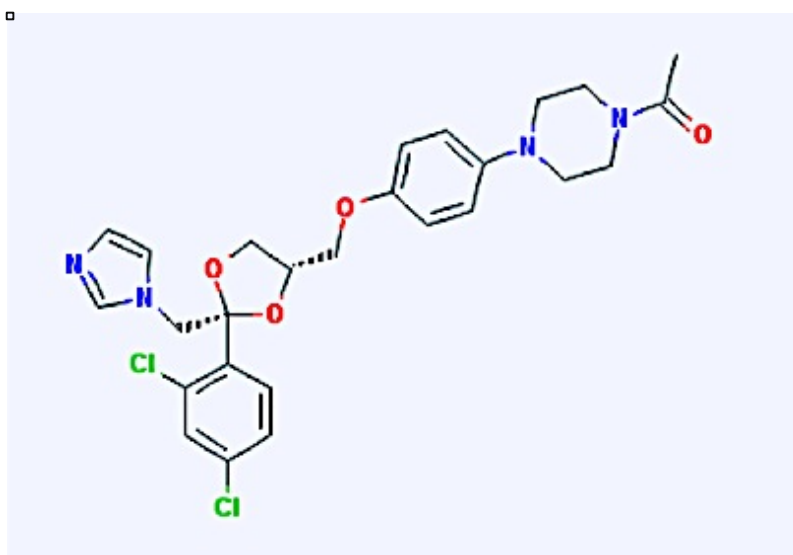


Figura 11. Estructura química del ketoconazol.³⁶

ANTECEDENTES

6.1 NOMBRE QUÍMICO

Cis-1-Acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorfenil)-2-(1-H-imidazol-1-ilmetil)-1,3dioxalan-4-il]metoxi]-fenil]piperazina

6.2 FÓRMULA CONDENSADA

C₂₆ H₂₈ Cl₂ N₄ O₄; **C 58.76%, H 5.31%, Cl 13.34%, N 10.54%, O 12.04%**

6.3 DESCRIPCIÓN

Es un polvo cristalino color blanco o ligeramente amarillo.^{29, 30, 36}

En la tabla siguiente se muestran algunas de las propiedades fisicoquímicas del ketoconazol:

Propiedad		
Peso molecular	531.44 g/mol	
Solubilidad:	Datos farmacopeicos de solubilidad completa.	Datos reportados ⁴⁰
	Muy soluble en cloruro de metileno. Soluble en metanol. Ligeramente soluble en alcohol Prácticamente insoluble en agua.	En agua 0.0866 mg/L (22°C); PVP K-30 solución al 20% ~ 2 mg / ml (25°C) DMSO seco ~ 20 mg / ml (22°C) El etanol anhidro (caliente) ~ 20 mg / ml (45°C) Metanol ~ 5 mg / ml (22°C) Cloroformo ~ 10 mg / ml (22°C) Aceite de MCT ~ 0,02 mg / ml (22°C)
Punto de fusión	148 °C – 152 °C	
pKa	2.9 y 6.5	
Rotación específica	-1° a +1° (t=20°)	

Tabla 3. Propiedades del ketoconazol.^{36, 37, 38, 39, 40}

6.4 INDICACIONES TERAPÉUTICAS

Está indicado para el tratamiento de diversas dermatofitosis: tinea corporis, cruris, pedis o “pie de atleta”, onicomycosis, dermatitis seborreica, pitiriasis versicolor y en la candidiasis vulvovaginal y de la piel (tanto en los casos leves como en los graves). Es útil para el tratamiento de las candidiasis diseminada, mucocutánea crónica y orofaríngea causadas por *Candida sp.*^{36, 38, 41, 42}

Es considerado como de primera elección para el tratamiento de la blastomycosis, coccidioidomycosis e histoplasmosis pulmonares o diseminadas, en pacientes inmunocomprometidos y sin localización meníngea, también es útil en el tratamiento de la paracoccidioidomycosis.^{38, 41, 42}

Debido a sus características es factible la utilización del ketoconazol en cualquier tipo de micosis. De acuerdo con Ho, Arenas y Bonifaz, se ha reportado útil en el tratamiento de otomycosis como un agente imidazólico, por lo que se propone desarrollar una nueva forma farmacéutica con este principio activo, que sea de fácil administración ótica.^{1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 20, 25, 26.}

A continuación se mencionará las características biofarmacéuticas del ketoconazol en crema, ya que no existe en forma de una solución ótica; además que las formulaciones óticas administradas en el canal auditivo externo poseen gran similitud a las empleadas para uso tópico.

6.5 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA

El ketoconazol en crema no produce niveles detectables en sangre después de su aplicación.^{36, 41, 42, 43}

Actúa contra dermatofitos, levaduras, hongos dimorfos, eumicetos, actinomicetos y ficomicetos.^{36, 37, 38, 41, 42, 43}

El ketoconazol inhibe la biosíntesis de triglicéridos, ergosterol, fosfolípidos y otros esteroides fúngicos, cambiando la composición de los lípidos de membrana por tanto alterando la permeabilidad de la membrana, haciendo a la célula más sensible a la presión osmótica, además disminuye la actividad de las enzimas oxidativas y peroxidativas, lo que resulta en la acumulación (hasta concentraciones tóxicas) de peróxido de hidrógeno que provocan la destrucción de los organelos y la muerte celular.^{36, 37, 38, 41, 42, 43}

MECANISMO DE ACCIÓN:

De este modo se entorpece la biosíntesis del ergosterol en la membrana citoplasmática y permite la acumulación de los 14 α -metilesteroides (Venden Bossch y col, 1995). Estos metilesteroides pueden alterar la disposición íntima de las cadenas acil de los fosfolípidos y con ello alterar las funciones de algunos sistemas enzimáticos de la membrana como ATPasa y enzimas de transporte eléctrico, lo que inhibe la proliferación de los hongos (Ver Figura 12).^{36, 37, 38, 41, 42, 43, 44}

ANTECEDENTES

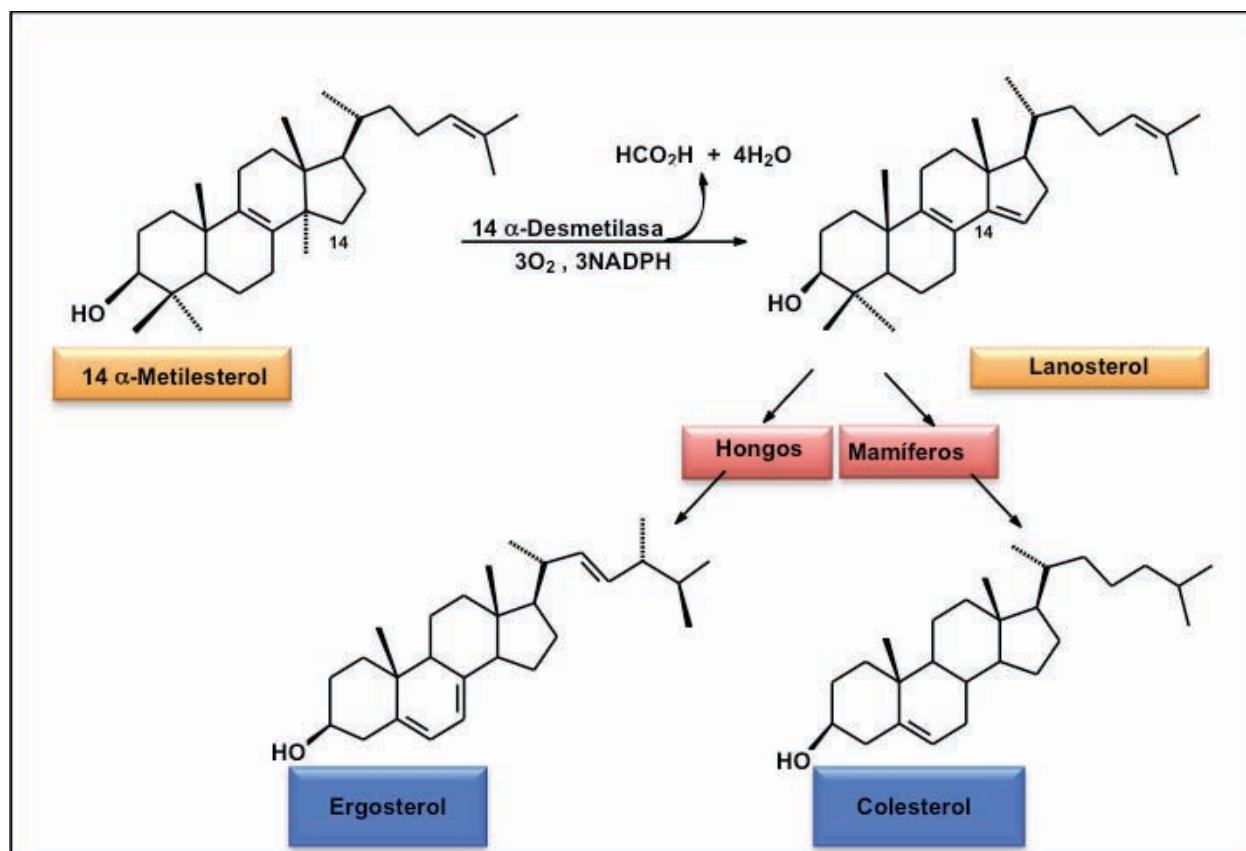


Figura 12. Reacción catalizada por 14 α-desmetilasa. ⁴⁴

El ketoconazol inhibe la síntesis de los esteroides tanto para hongos como para humanos por que actúa bloqueando al sistema de enzimas que depende del Citocromo P-450 (CYP3A4), esto es inhibiendo la actividad de la 14 α-Desmetilasa.

7. EVALUACIÓN QUÍMICA DEL PRINCIPIO ACTIVO

En las pruebas estabilidad, degradación de principio activo y compatibilidad con excipientes se utilizará un método cromatográfico con el fin de identificar la presencia de ketoconazol, el cual se describe a continuación.

La Cromatografía en Capa Fina (CCF), es una técnica, que permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla mediante un proceso de migración diferencial en el cual los componentes son transportados por una fase móvil en una fase estacionaria.^{30, 45}

La fase estacionaria es un absorbente sólido que puede ser alúmina o gel sílice, distribuido uniformemente sobre una superficie plana de vidrio, plástico o metal. Este absorbente presenta cierta capilaridad dada por las partículas finamente divididas y que permite que la fase móvil pase entre las partículas absorbentes. La separación ocurre cuando uno de los componentes de la mezcla es retenido con mayor grado por la fase estacionaria que los otros componentes.^{30, 45}

La fase móvil se selecciona basándose en la polaridad de la sustancia y se realizan estudios previos para encontrar el disolvente o la mezcla de disolventes que pueda separar mejor a la sustancia.^{30, 45}

El factor de retraso o R_f , está dado por el movimiento de cada sustancia en determinado sistema, lo que permite utilizarlo como un dato importante de identificación. Se determina como una relación al frente; representa la distancia recorrida por el compuesto, en relación a la distancia recorrida por la fase móvil por lo que su valor siempre oscilará entre 0 y 1.^{30, 45}

ANTECEDENTES

Se calcula con siguiente ecuación:

$$R_f = \frac{R_2}{R_1} \quad \text{Ecuación 1.}$$

De donde R_f es el factor de retraso.

R_1 es la distancia recorrida por la fase móvil.

R_2 es la distancia recorrida por un compuesto desde su origen.

No todas las sustancias pueden observarse por lo que en muchas ocasiones es necesario observar la placa de cromatografía después de someterla a procesos de revelado los cuales pueden ser bajo la lámpara de luz ultravioleta o bien en una cámara de yodo metálico.

Es importante considerar que las manchas no son simétricas por lo que es necesario utilizar como dato, la porción de la intensidad máxima.^{30, 45}

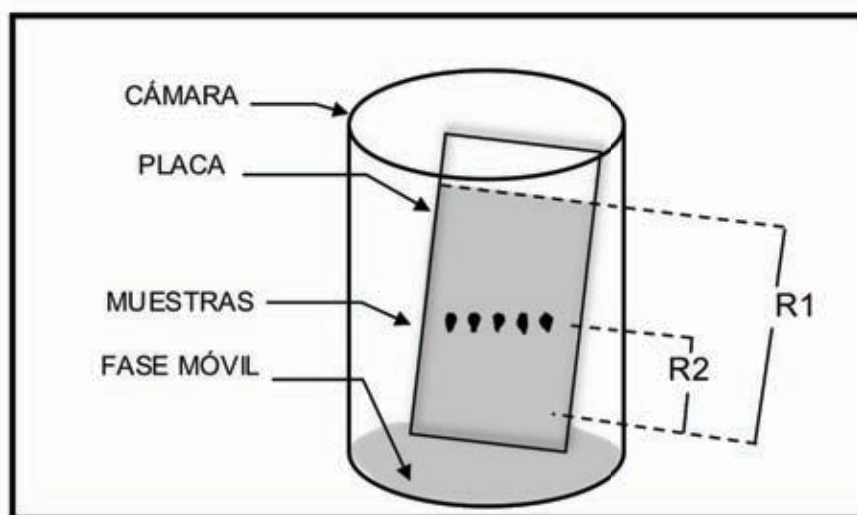


Figura 13. Cromatografía en capa fina.

ANTECEDENTES

8. DESARROLLO DE FARMACÉUTICO

Dentro del proceso de desarrollo farmacéutico de un medicamento, existen una serie de etapas, las cuales tienen como principal objetivo evaluar la eficacia y seguridad de un nuevo medicamento.^{31, 46, 47}

A continuación se presenta un diagrama que muestra en términos generales las etapas del desarrollo de un nuevo medicamento:

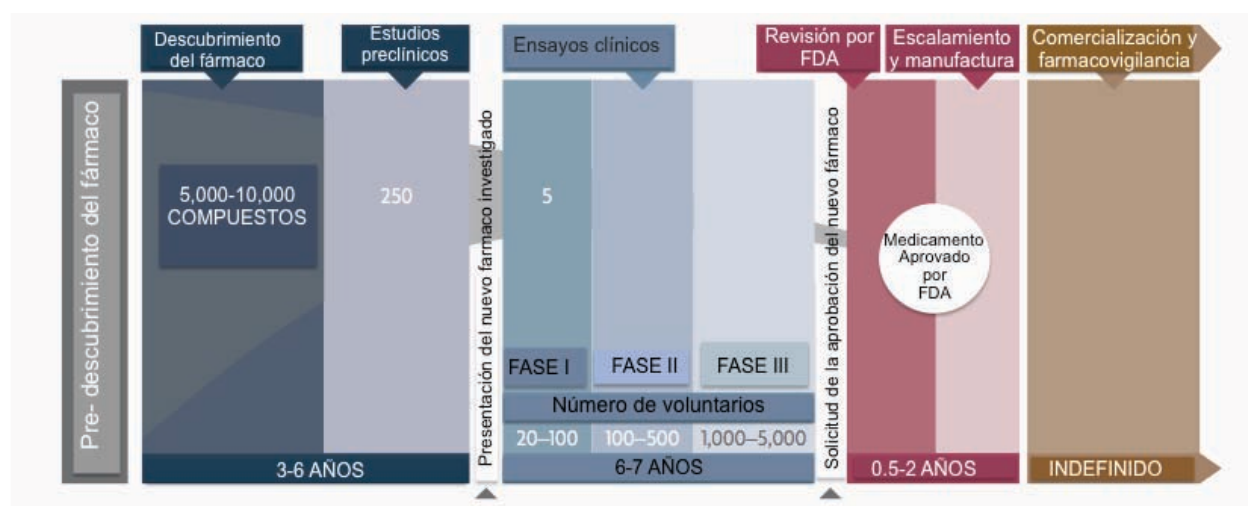


Diagrama 1. Imagen adaptada de las Fases de la investigación y desarrollo de un nuevo fármaco.⁴⁸

El ketoconazol cuenta con estudios de actividad farmacológica, estudios preclínicos, clínicos y ha sido aprobado por FDA, lo que permite enfocarnos al diseño de una nueva formulación.

De acuerdo al proceso sugerido por Rodríguez, Ponce, Gennaro y Tait, con el fin de cumplir con los objetivos planteados de este proyecto; se llevará a cabo las etapas de preformulación, formulación, estabilidad preliminar y se propondrán las especificaciones de una formulación preliminar.⁴⁷

A continuación en el diagrama 2, se muestran los pasos a seguir para llevar a cabo el desarrollo de la formulación.

ANTECEDENTES

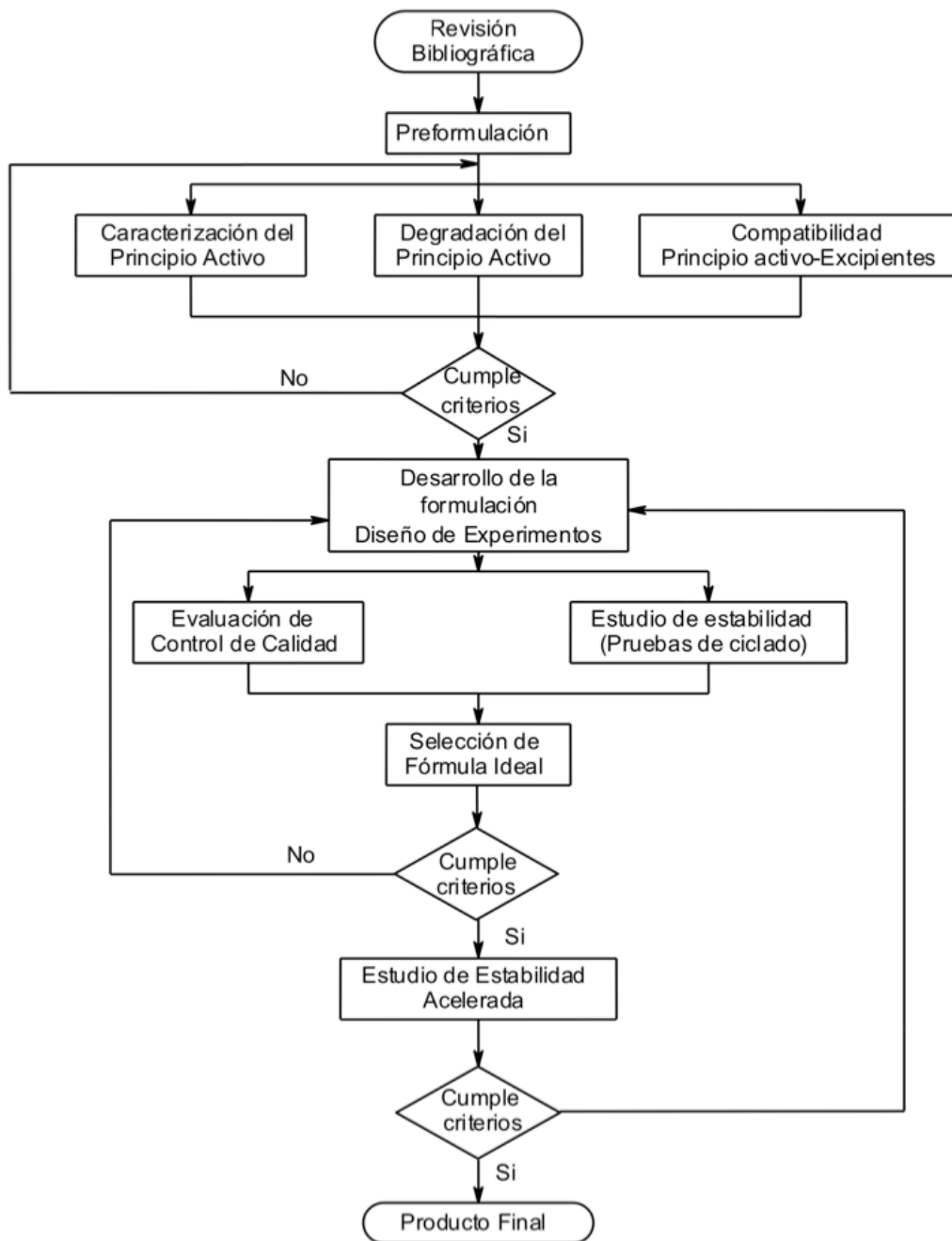


Diagrama 2. Esquema general adaptado del desarrollo farmacéutico. ⁴⁷

8.1 PREFORMULACIÓN

La preformulación se describe como una fase del proceso de desarrollo del medicamento en la que se caracterizan las propiedades físicas, químicas y mecánicas que permitan diseñar la forma farmacéutica.⁴⁷

Las pruebas de preformulación son el primer paso racional en el desarrollo de formas farmacéuticas de un principio activo. Puede ser definidas tanto por la investigación física y química del principio activo, solo y cuando se combina con excipientes.⁴⁶

El principal objetivo de las pruebas de preformulación es generar la información útil al formulador en el desarrollo, y así conocer la estabilidad y biodisponibilidad de la forma farmacéutica a producir.⁴⁶

De tal forma que primero se realiza una investigación bibliográfica del principio activo con el fin de conocer la estructura química, características físicas y químicas, efecto terapéutico, dosificación y toxicidad.^{31, 46, 47}

Los parámetros físicos importantes a considerar son: pKa (si el fármaco es un ácido o base), solubilidad, punto de fusión, polimorfismo, higroscopicidad, características de fase y en el caso de sólidos área de contacto y sales.^{27, 28, 31, 37, 46}

Una vez que se cuenta con estos datos se realizan los estudios de preformulación que tienen como objeto la caracterización del principio activo; con respecto al tamaño de partícula, solubilidad, disolución y la compatibilidad con los excipientes que pueden ser utilizados dentro de la fórmula.^{28, 46, 47}

Estos estudios permiten conocer cual es la forma farmacéutica más adecuada a desarrollarse y cuales pueden ser los factores que se podrían modificar con el fin de mejorar una formulación.^{28, 46, 47}

8.2 FORMULACIÓN

Los preparados farmacéuticos son productos de composición compleja, donde los principios activos están asociados a otras sustancias mediante las cuales se busca modificar su acción farmacológica de acuerdo con fines terapéuticos definidos. Dicho proceso de formulación consiste en la mezcla de ingredientes para formar un producto específico.⁴⁷

La formulación de un medicamento debe procurar el empleo del menor número de componentes posibles y permitir la obtención del mejor costo/efectividad del fármaco; porque entre mayor sea el número de componentes, mayor es la probabilidad de incompatibilidades o manifestaciones de inestabilidad y mayor el costo por la adición de posibles etapas innecesarias al proceso de fabricación.^{31, 47}

Esta etapa del desarrollo farmacéutico permite seleccionar a los excipientes propuestos en los estudios de preformulación para sugerir una forma farmacéutica, así como una fórmula óptima. Se busca la fórmula más estable y conocer el orden de adición de los excipientes con el fin de plantear el procedimiento de manufactura más fácil.^{31, 46, 47}

Se utiliza el diseño de experimentos como herramienta, a fin de seleccionar la fórmula que cumpla con las características deseadas y con los objetivos planteados en el desarrollo de un medicamento.⁴⁷

ESTABILIDAD

Existen muchos factores que afectan la estabilidad de un producto farmacéutico: la estabilidad de los principios activos, la interacción potencial entre principios activos y excipientes, el proceso de fabricación, la forma farmacéutica, el sistema de envase-revestimiento-cierre y las condiciones ambientales durante el transporte, almacenamiento, manipulación y tiempo transcurrido entre la fabricación y el uso.^{31, 46, 47, 49}

El objetivo de los estudios de estabilidad es proveer evidencia documentada de cómo las características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas de la formulación, varían con el tiempo bajo influencia de factores ambientales tales como; temperatura, luz y humedad. Establece las condiciones de almacenamiento adecuadas y el periodo de caducidad.^{49, 50}

Los estudios de estabilidad permiten relacionar los cambios de un producto con la disminución en la actividad terapéutica de la formulación o bien la probable toxicidad de un producto de degradación, generado durante el almacenamiento, por lo que estas pruebas son esenciales dentro del desarrollo farmacéutico de un nuevo medicamento.^{31, 46, 47, 49}

El siguiente paso dentro del desarrollo farmacéutico de un nuevo medicamento es el desarrollo de un método analítico que permita cuantificar la cantidad de principio activo y la validación de este método.

8.3 PRUEBA DE CICLADO TÉRMICO

Existen varios tipos de estudios de estabilidad y cada uno está diseñado con diferentes características según el fin que el investigador pretenda.^{31, 46, 47, 49}

La prueba de ciclado térmico no es un método de rutina para comercializados productos. En este método, las pruebas de estrés cíclicos de temperatura son diseñados en el conocimiento del producto con el fin de imitar las probables condiciones de almacenamiento. El período de ciclo de la mayoría es considerado de 24 horas, debido a que el ritmo diurno de la tierra es de 24 horas, y por lo tanto son los más propensos a experimentar los productos farmacéuticos comercializados durante el almacenamiento. Las temperaturas mínimas y máximas, se recomiendan ser seleccionadas en base de los posibles subproductos y teniendo en cuenta factores de recomendación de almacenamiento. Se recomiendan que la prueba tenga 20 ciclos (Kommanaboyina et al., 1999; Carstensen et al., 2000).⁴⁹

Para este proyecto de tesis se ha escogido esta prueba, debido a que permite conocer de una forma rápida, si existe algún efecto de la temperatura que implique una reformulación o bien la utilización de un nuevo empaque primario.

9. DISEÑO DE EXPERIMENTOS

El diseño de experimentos es una herramienta útil para el desarrollo o mejora del rendimiento de un proceso.

Un experimento diseñado es una prueba o serie de pruebas en las cuales se inducen cambios deliberadamente en las variables de entrada de un proceso o sistema, de manera que es posible observar e identificar las causas de los cambios en la respuesta de salida. Algunas variables del proceso son controlables mientras que otras no lo son, dependiendo del proceso.^{51, 52}

Para poder plantear un diseño de experimentos es necesario considerar cuales son los parámetros a evaluar (variables de salida) y cuales los factores a modificar de la fórmula (variables de entrada).

El diseño de experimentos utilizado dentro del proceso de desarrollo farmacéutico, comienza al plantear una fórmula farmacéutica inicial; la cual se establece a partir de las etapas de preformulación y formulación.^{46, 47, 51, 52}

A continuación se describirá de manera general el diseño de experimentos que se utilizó dentro de este proyecto de tesis.

ANTECEDENTES

9.1 FACTORES Y NIVELES

En todo diseño de experimentos se debe considerar los factores a variar en el experimento y los intervalos de la variación, esto es, los niveles específicos a los cuales se realizaran los experimentos.

Para conocer el número de experimentos (N) a realizar se propone un diseño factorial, en el cual se investigan todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores en cada ensayo completo y las replicas del experimento (r).

El diseño de experimentos realizados en este proyecto de tesis se combinaron dos factores en cada experimento; de manera que se expresa como un diseño 2^k .

En el diseño 2^k , k es número de niveles de cada factor; en este experimento se manejaron dos niveles para cada factor. Esto es un máximo y un mínimo de la concentración de nuestros excipientes, siendo entonces un diseño 2^2 .^{51, 52}

Los factores de este diseño se expresan de la siguiente manera:

	A (+)	A(-)
B(+)	A(+) B(+)	A(-) B(+)
B(-)	A(+) B(-)	A(-) B(-)

Tabla 4. Combinaciones de cada factor.

ANTECEDENTES

Diseño factorial por factores cruzados:

Exp.	A	B
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+

El número de factores (A y B) es: 2

El número de niveles (un máximo y un mínimo): $k = 2$

El número total de replicas a realizar por cada experimento: $r = 2$

El número de experimentos mínimos a realizar: $K = 2^k = 2^2 = 4$

El número total de experimentos realizados: $N = K(r) = 4(2) = 8$

ANTECEDENTES

Las variables de entrada afectan directamente a las variables de salida, por lo que se tiene que establecer las condiciones de las variables tanto de salida como de entrada , con la finalidad de conocer los intervalos a los cuales se obtiene una fórmula óptima.

Es necesario recordar siempre cual es el objetivo del experimento, ya que esto, permite establecer cuales son las variables tanto de entrada como de salida. ^{51, 52}

El diseño de experimentos se plantea de la siguiente manera:

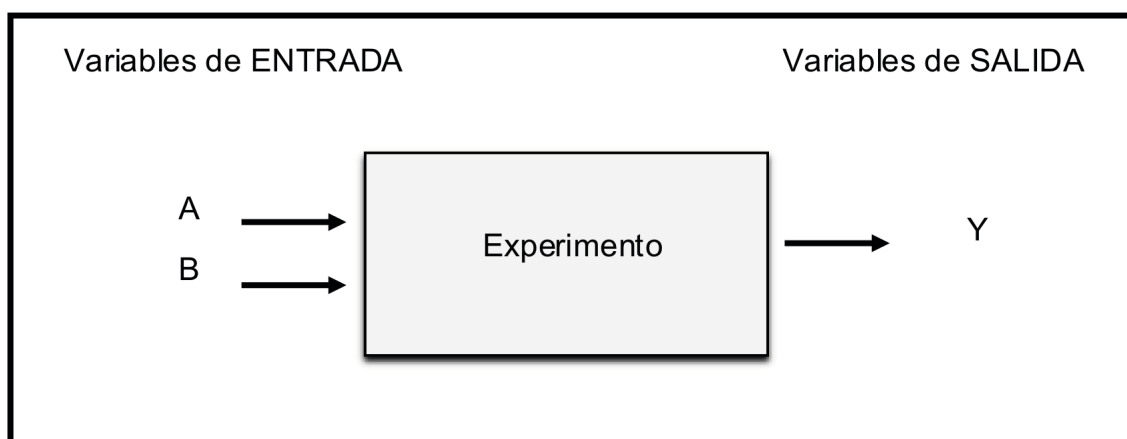


Diagrama 3. Diseño de Experimentos General.

Una vez establecidos los parámetros para los experimentos, se establece un método estadístico para evaluar, que tanto las variables de entrada afectan a las variables de salida; y si este efecto es favorable o no.

En este proyecto los resultados obtenidos se evaluaron por el método de contrastes ortogonales, el cual se describirá a continuación.

ANTECEDENTES

9.2 MÉTODO DE CONTRASTES ORTOGONALES

Debido a que sólo hay dos niveles para cada factor, debe suponerse que la respuesta es aproximadamente lineal en el intervalo de los niveles elegidos de los factores.

Por convención el efecto de un factor se denota por la letra latina mayúscula. De este modo, "A" se refiere al efecto del factor "A"; "B" se refiere al efecto del factor "B" y "AB" se refiere a la interacción "AB". En este diseño los niveles bajo y alto de "A" y "B" se denotan por un signo "-" y "+" respectivamente.

La siguiente figura presenta gráficamente las combinaciones de tratamientos para el diseño (2^2), en el cual se gráfica cada efecto (A y B) con su respectivo nivel (- y +). Ambos se grafican en función de sus ejes. Así, "-" en el eje "A" representa el nivel bajo, mientras que "+" representa el nivel alto y "-" en el eje "B" representa el nivel bajo, mientras que "+" representa el nivel alto.⁵²

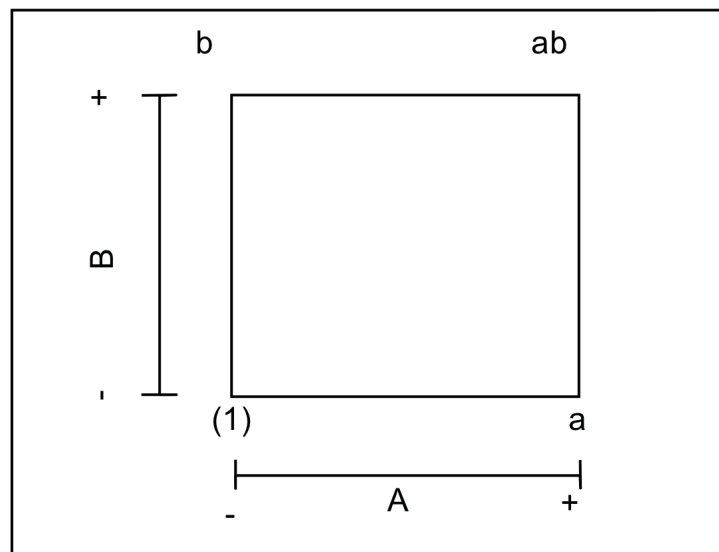


Figura 14. Combinaciones de tratamientos en el diseño 2^2

ANTECEDENTES

Las cuatro combinaciones de tratamientos en el diseño suelen representarse por letras minúsculas.

De tal forma que “a” representa la combinación de tratamientos en la que “A” se encuentra en el nivel superior y “B” en el inferior. “b” representa aquella en la que “A” se halla en el nivel inferior y “B” en el superior, y “ab” representa a ambos factores en el nivel superior. Por convención “(1)” se usa para representar a ambos factores en el nivel inferior.

El valor de cada combinación (a, b, ab) se usa para representar los totales de las “r” replicas en las combinaciones de tratamientos correspondientes.⁵²

Cuando existen n réplicas:

Experimento	Factores		Replicas			Combinación	Totales	Promedio
	A	B	I	IIr			
1	-	-	y11	y12y1r	(1)	y1	$\Sigma y1/r$
2	+	-	ya1	ya2yar	a	ya	$\Sigma ya/r$
3	-	+	yb1	yb2ybr	b	yb	$\Sigma yb/r$
4	+	+	yab1	yab2yabr	ab	yab	$\Sigma yab/r$

De tal forma que cada combinación es igual a la suma de las replicas de cada experimento, esto es:

$$(1) = y11 + y12 + \dots + y1n$$

$$A = ya1 + ya2 + \dots + yan$$

$$B = y b1 + yb2 + \dots + ybn$$

$$AB = yab1 + yab2 + \dots + yabn$$

ANTECEDENTES

La suma de todos los tratamientos, se expresa en la siguiente ecuación:

$$\sum_i^a \sum_j^b \sum_k^n y_{ijk}$$

Ecuación 2.

De manera general, efecto de un factor se define como un cambio en la respuesta producida por un cambio en el nivel del factor.

El efecto promedio de un factor se define como el cambio en la respuesta producida por un cambio en ese factor, promediado sobre los niveles del otro factor.

Por lo que el efecto de "A" en el nivel inferior de "B" es $[a-(1)]/r$ mientras que en el nivel superior de "B" es $[ab-b]/r$.

Tomando el promedio de estas dos cantidades se obtiene:

$$A = \frac{1}{2r} ([ab - b] + [a - (1)])$$

$$A = \frac{1}{2r} (ab + a - b - (1))$$

Por lo tanto, el efecto de "A" se calcula con la siguiente ecuación:

$$A = \frac{ab + a - b - (1)}{2r}$$

Ecuación 3.

ANTECEDENTES

El efecto promedio de “B” se determina a partir de su efecto en el nivel inferior de “A”, esto es $[b-(1)]/r$; y su efecto en el nivel superior de “A” que es igual a $[ab-a]/r$, obteniéndose:

$$B = \frac{1}{2r} ([ab - a] + [b - (1)])$$

$$B = \frac{1}{2r} (ab + b - a - (1))$$

El efecto de “B” se calcula con la siguiente ecuación:

$$B = \frac{ab + b - a - (1)}{2r} \quad \text{Ecuación 4.}$$

El efecto de interacción “AB” se define como la diferencia promedio entre el efecto de “A” en el nivel superior de “B” y su efecto en el nivel inferior de “B”.

También se puede definir como la diferencia promedio entre el efecto de “B” en el nivel superior de “A” y el efecto de “B” en el nivel inferior de “A”. Esto nos conduce a la misma ecuación:

$$AB = \frac{1}{2r} ([ab - b] - [a - (1)])$$

$$AB = \frac{1}{2r} (ab + (1) - a - b)$$

Por lo tanto, el efecto de AB es:

$$AB = \frac{ab + (1) - a - b}{2r} \quad \text{Ecuación 5.}$$

ANTECEDENTES

Siendo el efecto para cada factor definido como:

$$Efecto_A = \frac{Contraste_A}{2^{l-1} \cdot r} = \frac{Contraste_A}{2^{2-1} \cdot r} = \frac{Contraste_A}{2^1 \cdot r} = \frac{Contraste_A}{2r} \quad \text{Ecuación 6.}$$

De acuerdo con las ecuaciones 3 a 5 podemos saber el contraste para cada factor, el cual se calcula de la siguiente manera:

$$Contraste_A = ab + a - b - (1) \quad \text{Ecuación 7.}$$

$$Contraste_B = ab + b - a - (1) \quad \text{Ecuación 8.}$$

$$Contraste_{AB} = ab + (1) - a - b \quad \text{Ecuación 9.}$$

Sin embargo es necesario tomar en cuenta el resultado y la magnitud de estos efectos, para determinar cuál o cuáles variables son importantes.

Puesto que el resultado esperado es comparable al de una recta, el modelo de análisis de varianza es el siguiente:

$$y = b_0 + b_1A + b_2B + b_3AB \quad \text{Ecuación 10.}$$

Para un análisis con las características antes planteada se propone su ecuación al sumar a los efecto de cada factor y dividirlos entre su número de niveles, obteniendo el coeficiente para cada uno.

Siendo la ordena al origen, el promedio global de todos los datos obtenidos; de esta forma se puede calcular teóricamente cualquier punto de esta línea.

$$b_1 = \text{Coeficiente}_A = \frac{Efecto_A}{l} \quad \text{Ecuación 11.}$$

ANTECEDENTES

$$b_2 = \text{Coeficiente}_B = \frac{\text{Efecto}_B}{I} \quad \text{Ecuación 12.}$$

$$b_3 = \text{Coeficiente}_{AB} = \frac{\text{Efecto}_{AB}}{I} \quad \text{Ecuación 13.}$$

$$b_0 = \frac{\sum_{I=1}^a \sum_{J=1}^b \sum_{K=1}^n y_{ijk}}{N} \quad \text{Ecuación 14.}$$

Las pendientes para las rectas esperadas son:

b0, El valor promedio de los todos los datos utilizados.

b1, El valor del coeficiente para la variable de A.

b2, El valor del coeficiente para la variable de B.

b3, El valor del coeficiente para la variable de AB.

Por lo general puede emplearse el análisis de varianza para confirmar la interpretación de los resultados obtenidos y ver si estos influyen significativamente sobre un experimento. ^{51, 52}

ANTECEDENTES

9.3 ANÁLISIS DE VARIANZA

El análisis de varianza resulta de descomponer la variabilidad total de los datos en sus partes, calculando una F experimental (F_0) para cada factor y comparándola con una F de tablas (F_t) con el fin de encontrar cual o cuales de estos factores influyen sobre un experimento.

De modo que al obtener un valor de F_0 mayor al F_t , indica que el factor de esta, influye directamente sobre el experimento.

Para este análisis es necesario que se considere la suma de cuadrados para cada factor; lo cual se calcula a partir del contraste, y este suele llamarse efecto total del factor.

La suma de cuadrados de un contraste es igual al contraste elevado por la suma de cuadrados de los coeficientes del mismo. ⁵²

En consecuencia, se obtiene que la suma de cuadrados de A, B y AB son:

$$SS_A = \frac{[ab + a - b - (1)]^2}{N} = \frac{\text{Contraste}_A^2}{N} \quad \text{Ecuación 15.}$$

$$SS_B = \frac{[ab + b - a - (1)]^2}{N} = \frac{\text{Contraste}_B^2}{N} \quad \text{Ecuación 16.}$$

$$SS_{AB} = \frac{[ab + (1) - a - b]^2}{N} = \frac{\text{Contraste}_{AB}^2}{N} \quad \text{Ecuación 17.}$$

Para obtener la variabilidad de todos los datos es necesario obtener la suma de cuadrados totales utilizando la siguiente ecuación:

ANTECEDENTES

$$SS_t = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - \frac{y^2}{abn} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - \frac{y^2}{N}$$

Ecuación 18.

La suma de cuadrados del error puede calcularse por diferencia de la SC_t y la de los factores:

$$SS_t = SS_A + SS_B + SS_{AB} + SS_E \quad \text{Ecuación 19.}$$

$$SS_E = SS_t - (SS_A + SS_B + SS_{AB}) \quad \text{Ecuación 20.}$$

Cada suma de cuadrados dividida entre sus grados de libertad produce una media de cuadrados.

Los grados de libertad asociados a cada suma de cuadrados son:

Efecto	Grados de libertad
A	$a - 1 = 2 - 1 = 1$
B	$b - 1 = 2 - 1 = 1$
AB	$(a - 1)(b - 1) = (1)(1) = 1$
Error	$gLT - (gLA + gLB + gL AB)$
Total	$N - 1$

ANTECEDENTES

Finalmente se calcula la F_0 experimental al dividir la suma de cuadrados de cada factor entre el valor de la suma de cuadrados, esto es:

La F_t , para el experimento a realizar con $N - 1$ grado de libertad y 0.95% de error es:

Para $g_{LT} = 7$ $F_t = 1.89$

Para $g_{LT} = 47$ $F_t = 1.67$

Por lo que teóricamente esperamos obtener un valor mayor de F_0 para que este factor influya sobre el experimento.

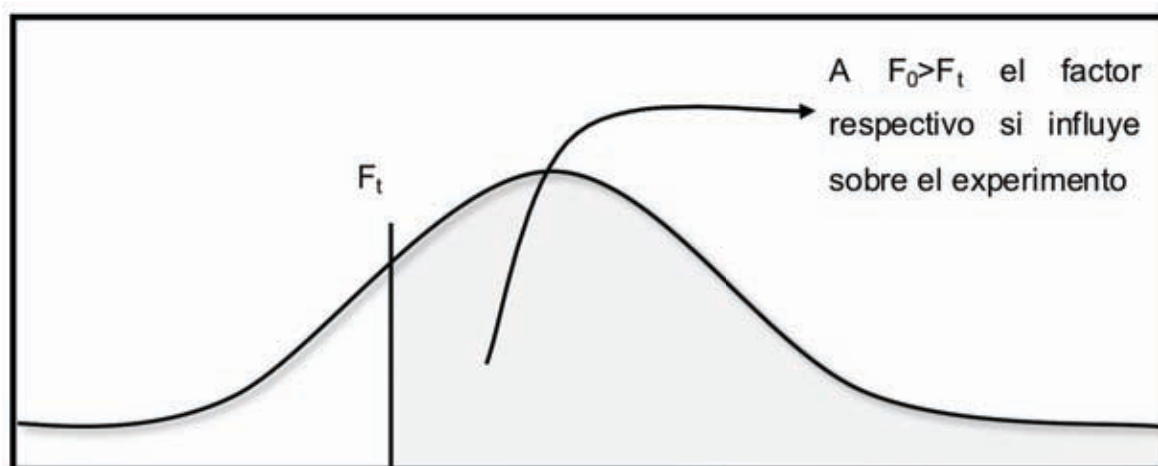


Diagrama 4. Representación gráfica de F.

Una vez calculada la F_0 para cada variable y comparada con la F teórica, se debe tomar la decisión de la influencia de cada coeficiente. Solo aquellas F_0 mayores al valor teórico podrán considerarse que influyen sobre la Ecuación (10), en caso contrario, despreciar los coeficientes que no influyen.⁵²

;

Capítulo 2

PARTE EXPERIMENTAL

;

PARTE EXPERIMENTAL

1. PREFORMULACIÓN.

Para llevar a cabo el desarrollo de la formulación se procedió con la siguiente metodología.

1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO.

❖ DESCRIPCIÓN

Es necesario que el principio activo cumpla con las características fisicoquímicas reportadas, de manera que es necesario describir el fármaco, basándose en el color, olor y forma de los polvos.

Especificación: es un polvo cristalino color blanco o ligeramente amarillo.^{29, 30, 39}

METODOLOGÍA.

1. Tomar una cantidad significativa del principio activo y se coloca en una superficie plana y cristalina como una caja Petri o un porta objetos.
2. Extender la muestra y si es posible se puede observar al microscopio la muestra, anotando las características observadas.
3. La muestra cumple con la especificación si el principio activo corresponde a lo especificado (según FEUM 10^a ed.).

PARTE EXPERIMENTAL

❖ PUNTO DE FUSIÓN.

La temperatura de fusión es el intervalo de temperatura en el cual una sustancia sólida se colapsa y se funde completamente. Este intervalo nos indica la pureza e identifica al principio activo.^{29, 30, 39}

Especificación: Punto de fusión entre 148 °C y 152 °C.^{29, 30, 36, 39}

METODOLOGÍA.

1. Tomar una porción de la muestra equivalente a 1-10 mg del principio activo y colocar sobre un porta objetos en la plancha del equipo Karl Fisher.
2. Encender la lámpara del equipo para que el haz de luz incida sobre el polvo, el botón del reóstato debe colocarse a velocidad media de calentamiento.
3. El punto de fusión se reporta con el dato de la temperatura a la cual comienza a fundirse la muestra y la temperatura a la cual termina. El producto cumple con las especificaciones, siempre que el intervalo de fusión se encuentre entre los valores especificados por FEUM 10ª ed.

PARTE EXPERIMENTAL

❖ DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

Varias propiedades físicas y químicas del fármaco son afectadas por la distribución del tamaño de partícula o diámetro medio.

En el caso de formas sólidas afecta directamente la absorción del principio activo y en el caso de formas líquidas en la velocidad de disolución.

Existe una relación inversa entre el tamaño de partícula y el área superficial; de manera que a un tamaño de partícula mayor dado la disolución será más lenta, puesto que se tiene menor superficie de contacto. Por tal motivo es sumamente importante evaluar esta característica, ya que repercute en la disolución del principio activo.^{29, 30, 39}

METODOLOGÍA.

1. Colocar en orden ascendente de número de abertura las mallas de acero inoxidable limpias y secas.
2. Pesar cada una de las mallas, incluyendo la base y la tapa (Pi).
3. Pesar 10 g del principio activo.
4. Colocar el juego de mallas en el siguiente orden del diagrama 5, en el equipo Rotap.
5. Antes de cubrir los tamices con la tapa, colocar la muestra en la malla # 20.
6. Encender el quipo y se deja funcionar durante 10 minutos.
7. Pesar nuevamente cada malla con su respectiva muestra retenida como el paso 2.
8. Calcular la cantidad de polvo retenido y expresar el resultado en porcentaje de muestra, utilizando la siguiente fórmula.

PARTE EXPERIMENTAL

$$\%R = \frac{(P_i - P_f)}{M} \times 100 \quad \text{Ecuación 1.}$$

En donde:

%R es el porcentaje retenido de la muestra para cada malla.

M es el peso de la muestra total en gramos.

P_i es el peso inicial para la malla en gramos.

P_f es el peso en gramos de la malla con la muestra al finalizar la prueba.

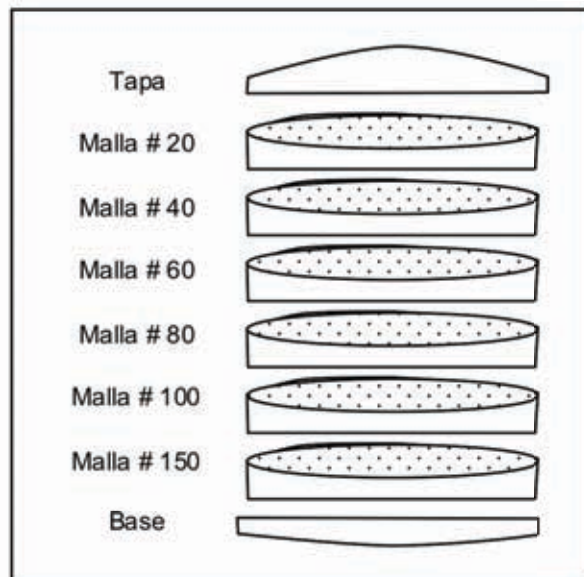


Diagrama 5. Acomodo de mallas.

Esta determinación es necesaria realizarla por triplicado. Los resultados obtenidos se grafican en un histograma y se determina la zona en donde se tuvo un mayor %R, estos resultados se analizan en base a la clasificación de Tamaño de Partícula de FEUM 10^a ed. (Ver anexo de generalidades).^{29, 30, 39}

PARTE EXPERIMENTAL

En el análisis del tamaño de partícula se calculan distintos diámetros, los cuales nos sugieren la forma hipotética de la partícula con respecto al diámetro de una esfera. Usando las siguientes ecuaciones.⁵³

$$d_{av} = \frac{\sum n d_i}{\sum n} \quad \text{Ecuación 21.}$$

Donde:

n es el número de partículas o la cantidad de masa retenida por una malla con el mismo diámetro y **Σn** es la cantidad total de partículas o de masa total utilizada en cada experimento.

di es el diámetro de abertura en la malla.

dav es el diámetro medio aritmético de todos diámetro de partícula, dividido entre la cantidad total de partícula o de masa.

$$d_g = \text{antilog} \left[\frac{\sum n \log(d_i)}{\sum n} \right] \quad \text{Ecuación 22.}$$

dg es el diámetro geométrico del tamaño de partícula correspondiente al valor del 50% de la distribución acumulada.⁵³

$$d_v = \left[\frac{\sum n d_i^3}{\sum n} \right]^{\frac{1}{3}} \quad \text{Ecuación 23.}$$

dv es el diámetro de la esfera hipotéticamente del mismo volumen que la partícula.

PARTE EXPERIMENTAL

d_s es el diámetro de la esfera hipotéticamente con la misma área superficial que la partícula.

$$d_s = \left[\frac{\sum n d_i^2}{\sum n} \right]^{\frac{1}{2}} \quad \cdot \quad \text{Ecuación 24}$$

d_{vs} es la media de volumen de superficie de la partícula, que es el tamaño medio sobre la base de la superficie específica por unidad de volumen.⁵³

$$d_{vs} = \frac{\sum n d_i^3}{\sum n d_i^2} \quad \text{Ecuación 25.}$$

El tamaño de partícula se relaciona con la velocidad de disolución intrínseca de una sustancia, al estar relacionada la cantidad de masa por volumen de la partícula que se transfiere al disolvente. En el proceso de disolución de una sustancia, las partículas se desintegran en muchas partículas más pequeñas y el tamaño de partícula va cambiando conforme avanza la disolución.²⁸

Por lo que el tamaño de partícula influye directamente en el tiempo de disolución, sin embargo hay que tomar en cuenta la naturaleza de la partícula y el tipo de disolvente a utilizar, para así encontrar las mejores condiciones en el desarrollo de una formulación.

PARTE EXPERIMENTAL

❖ SOLUBILIDAD.

Se denomina solubilidad del soluto en el disolvente a la magnitud de la disolución en una serie de condiciones experimentales determinadas. Por lo consiguiente, la solubilidad de una sustancia es la cantidad de la misma que pasa a la solución cuando se establece el equilibrio entre la solución y la sustancia en exceso (sin disolver). Se dice que la solución obtenida en estas condiciones está saturada.²⁸

La prueba realizada en este proyecto es la prueba de solubilidad completa, utilizada por FEUM 10 ed. esta prueba se basa en la comparación visual de la muestra en solución contra el disolvente utilizado (ver anexo de generalidades).³⁰

ESPECIFICACIÓN
Muy soluble en cloruro de metileno
Soluble en metanol
Muy ligeramente soluble en alcohol
Casi insoluble en agua.

Tabla 5. Especificación de la prueba de solubilidad del ketoconazol según FEUM 10^a ed.

METODOLOGÍA.

1. Colocar 1g de principio activo en una probeta de vidrio de 10 mL con tapón de vidrio, perfectamente limpia y seca.
2. Utilizar el disolvente de prueba y adicionar la cantidad equivalente según tabla anterior.
3. Agitar suavemente hasta obtener una solución.
4. En otra probeta con las mismas características, colocar el mismo volumen del disolvente usado y comparar visualmente con la solución.

PARTE EXPERIMENTAL

En casos de disolventes no reportados en la bibliografía, se puede probar la cantidad mínima de 1g/mL a la cantidad máxima de 1g/1000 000mL, con el fin de encontrar el volumen de solubilidad si lo hay.

Interpretación de la prueba de solubilidad: la muestra presenta solubilidad completa cuando la solución antes preparada no es menos clara que un volumen igual del mismo disolvente en una probeta similar y examinando de la misma manera.

PARTE EXPERIMENTAL

1.2 ESTABILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO

La estabilidad se evalúa con la exposición del principio activo a distintas condiciones de luz, temperatura y humedad.

Esta evaluación nos permite conocer las condiciones de trabajo, almacenamiento y nos da una idea del envase primario a proponer para el producto terminado.^{46, 47, 48}

METODOLOGÍA.

1. Pesar 100 mg del principio activo y colocarlos en varios frascos viales transparentes o protegidos de la luz según la condición de la tabla 6.
2. Adicionar 1 mL de agua destilada, posteriormente tapar la muestra y agitar.
3. Someter las muestras a la temperatura según se establece en cada experimento durante una semana.

Experimento	Condición de temperatura y luz.
1	Luz, temperatura ambiente.
2	Protegido de la luz, temperatura ambiente.
3	Luz, refrigeración (4-8°C).
4	Luz, temperatura de 60°C.
5	Protegido de la luz, refrigeración (4-8°C).
6	Protegido de la luz, temperatura de 60°C.

Tabla 6. Prueba de estabilidad del principio activo.

PARTE EXPERIMENTAL

1.3 DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

En la prueba de degradación el principio activo es sometido a condiciones drásticas de pH y de oxidación, con el fin de conocer la descomposición provocada por hidrólisis y por oxidación.^{36, 38, 46, 47, 49}

REACTIVOS UTILIZADOS.

(a) H₂SO₄ 7N

(b) NaOH 7N

(c) H₂O₂ 30%.

Ct₁: Estándar de ketoconazol a 10 mg/mL disuelto en cloroformo.

Ct₂: Estándar de ketoconazol a 1 mg/mL disuelto en cloroformo.

METODOLOGÍA.

1. Pesar 100 mg del principio activo en un frasco vial limpio y seco.
2. Someter la muestra a las condiciones de prueba según la tabla 7 y adicionar 1 mL del reactivo correspondiente.
3. Realizar un blanco de cada condición con el disolvente utilizado, con la finalidad de verificar que no exista alguna sustancia que interfiera en el análisis.

PARTE EXPERIMENTAL

4. Finalmente realizar la evaluación de las muestras después de 24 horas por cromatografía en capa fina y revelar con una lámpara de UV o una cámara de yodo.

Condición	Disolvente
A	H ₂ SO ₄ 7N
B	NaOH 7N
C	H ₂ O ₂ 30%

Tabla 7. Prueba de degradación.

PARTE EXPERIMENTAL

1.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES.

Esta prueba tiene como objetivo poner en manifiesto las posibles incompatibilidades entre distintos componentes con el fin de proponer una posible fórmula.

Para la selección de los excipientes propuestos se tomo en cuenta las sustancias comúnmente utilizadas en la elaboración de esta forma farmacéutica.

METODOLOGÍA.

1. Colocar en un frasco vial de color ámbar en una porción de 1:1 (100mg:100mg) de principio activo y excipiente de acuerdo al orden establecido en la tabla 8.
2. Posteriormente adicionar 1 mL de agua destilada, cerrar con una tapa y agitar para mezclar los componentes.
3. Almacenar en una estufa las muestras a temperatura de 60 °C durante un mes.
4. Inspeccionar visualmente las muestras y analizar la presencia de productos de degradación por cromatografía en capa fina una vez por semana.

En las pruebas de estabilidad, degradación y compatibilidad con excipientes se evalúan los cambios físicos y químicos, con el fin de encontrar alguna posible incompatibilidad que propicie algún cambio en el fármaco.

PARTE EXPERIMENTAL

Orden de Muestra	Excipiente	Uso en la formulación	Cantidad usada en formulaciones óticas
A	Alcohol Isopropílico	Disolvente	1 – 70%
B	Alcohol cetílico	Emulsificante	2 – 5% *
C	Alcohol estearílico	Emulsificante	2 – 35%*
D	Propilenglicol	Disolvente.	Vehículo
E	Tween 80	Solubilizante	0.1 - 3%
F	Tween 60	Solubilizante	0.1 - 3%
G	Bisulfito de sodio	Antioxidante	0.01 – 1.0%*
H	Glicerina	Disolvente	Vehículo
I	Agua	Disolvente	Vehículo
J	Parafina líquida	Emoliente, disolvente	Vehículo
K	Metilparabeno	Conservador y antioxidante	0.01 – 0.6%*
L	Propilparabeno	Conservador y antioxidante	0.01 – 0.6%*
M	Etilendiamina tetracetato de sodio (EDTA)	Antioxidante	0.005 – 0.075%
N	Butilhidroxitolueno	Antioxidante	0.005 – 0.1%*
O	Metabisulfito de sodio	Antioxidante y conservador	0.025 – 0.1%*
P	Clorobutanol	Conservador	0.5 – 0.6%

Tabla 8. Excipientes utilizados en la prueba de compatibilidad con ketoconazol.

*Se ha reportado el uso de este excipiente en formulaciones óticas pero no se encontró especificación del porcentaje empleado por lo que se considero la concentración utilizada para en preparaciones tópicas.^{20, 27, 28, 31, 54}

Los cambios físicos evaluados están enfocados a la apariencia de la muestra, como el color, consistencia y formación de precipitados.

Para la evaluación de los cambios químicos se realizo Cromatografía en Capa Fina (CCF) con el fin de determinar la presencia de otros compuestos distintos al principio activo.

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Para determinar la presencia de productos de degradación y estabilidad del ketoconazol se empleó como referencia el siguiente sistema farmacopéico.²⁰

Fase estacionaria: capa de gel de sílice de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: mezcla de n-hexano, acetato de etilo, metanol, agua y ácido acético glacial en una proporción de (42:40:15:2:1).³⁹

Revelado: Utilizando la cámara de yodo o lámpara de luz UV.

2. FORMULACIÓN

Debido a que la otomicosis, es una infección casi exclusiva del conducto auditivo externo, en este proyecto se ha planteado como objetivo, realizar una solución con ketoconazol estable, transparente y libre de partículas extrañas, que actúe principalmente sobre el estrato corneo del canal auditivo para dar la pauta a una terapia eficaz en el tratamiento de otomicosis.

Una de las metas de la formulación, es plantear un método de solubilidad que nos permita que el principio activo sea lo suficientemente soluble en el disolvente adecuado para la vía de administración establecida para el producto.

Por lo que de los resultados obtenidos en la etapa de preformulación se seleccionará las condiciones de trabajo y los excipientes empleados para que la fórmula sea lo más estable.

2.1 DESARROLLO DE LA FORMULACIÓN

DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO EN DIFERENTES SOLVENTES

Puesto que la solubilidad de un fármaco es un factor que esta ligado a la estabilidad de una formulación, es necesario evaluar a los disolventes más comunes de las forma farmacéutica de administración ótica.

Para poder establecer el o los principales disolventes de la solución ótica, se tomo encuentra que el propilenglicol y la glicerina son los dos vehículos comúnmente utilizados dentro de las preparaciones óticas, solos o combinados.^{20, 27, 28}

Por lo que se propuso el siguiente experimento:

PARTE EXPERIMENTAL

METODOLOGÍA

1. Pesar la cantidad requerida del principio activo para obtener una solución a una concentración final de 2%.
2. Disolver al principio activo en las siguientes condiciones de acuerdo con lo establecido en la tabla 9.

Prueba	Condición
D1	Glicerina
D2	Propilenglicol
D3	Glicerina: propilenglicol (proporción 7:3)
D4	Glicerina: propilenglicol (proporción 6:4)
D5	Glicerina: propilenglicol (proporción 5:5)
D6	Glicerina: propilenglicol (proporción 4:6)
D7	Glicerina: propilenglicol (proporción 3:7)

Tabla 9. Prueba del disolvente para la solución ótica.

Estos experimentos tienen como fin principal establecer las condiciones óptimas de los disolventes empleados en la solución ótica.

Una vez establecidas las condiciones para preparar una solución y utilizando los datos de compatibilidad, se realizará un experimento inicial que permitirá establecer una fórmula inicial (Fi) que se someterá al Diseño de Experimentos.

PARTE EXPERIMENTAL

2.2 ORDEN DE ADICIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES

Con base a las características físicas de los componentes y del principio activo se estableció el siguiente orden de adición.

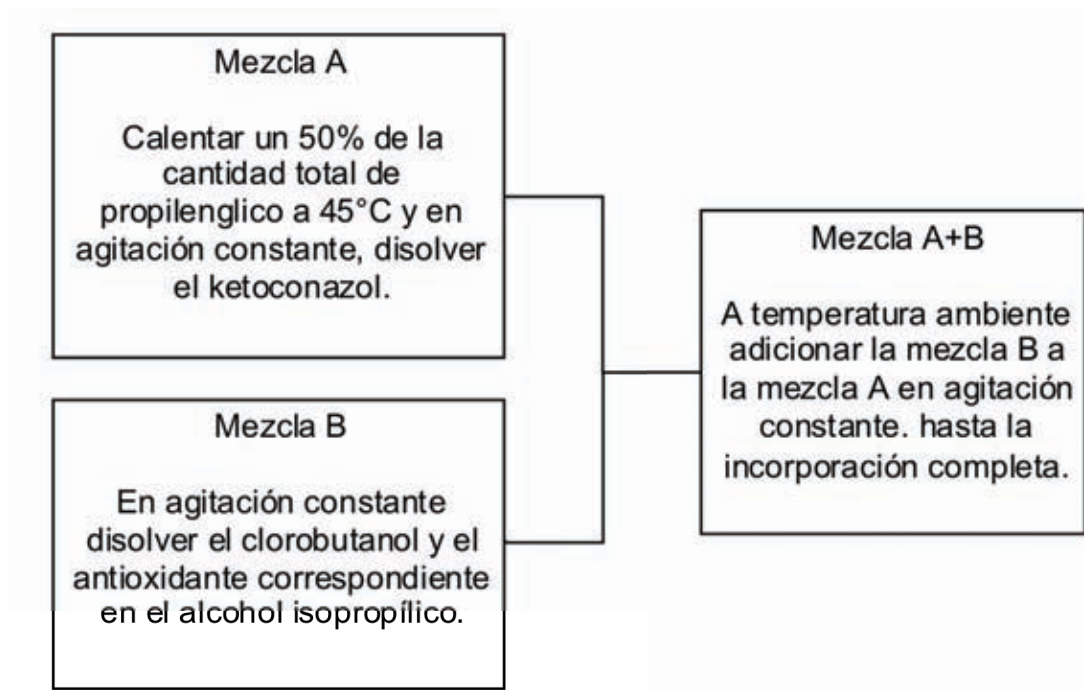


Diagrama 6. Orden de Adición.

PARTE EXPERIMENTAL

2.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Variables de entrada:

1) Debido a las características del ketoconazol es necesario considerar el tipo de antioxidante a emplear en la formulación, por lo cual se considero como nuestra primer variable de entrada y se probaron dos diferentes antioxidantes.

2) Otra variable de igual importancia a controlar en las preparaciones óticas es el pH, por lo que en el Diseño de Experimentos se modifico el pH del vehículo, considerando las recomendaciones para una solución ótica y el pKa del ketoconazol por lo que se estableció como nivel inferior del pH de 4 y como nivel superior el pH 7.

Variables de salida:

1) El aspecto físico de la solución (apariencia).

2) Rf como una prueba química, utilizando un estándar al 2% de ketoconazol en cloroformo, esto es: 0.02 g/mL.

Estableciendo la fórmula inicial (Fi), se aplicó el siguiente Diseño de Experimentos para realizar o llevar a cabo el desarrollo del producto.

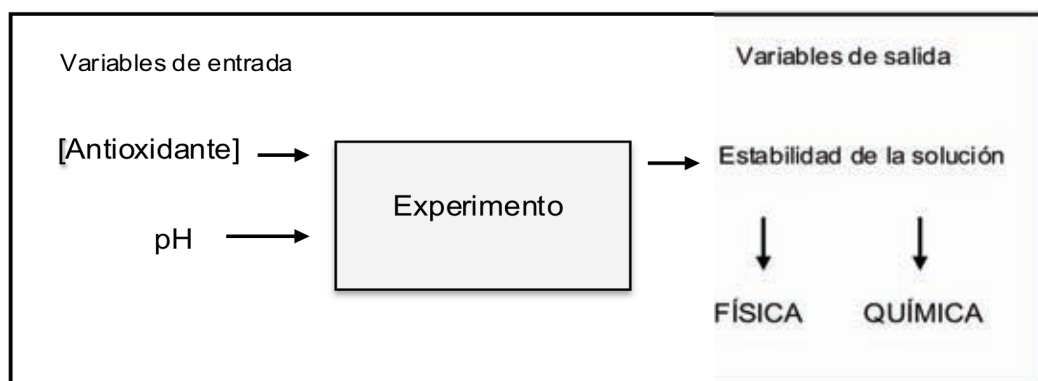


Diagrama 7. Diseño de experimentos I y II.

PARTE EXPERIMENTAL

En las siguientes tablas se describe el Experimento I con las condiciones a evaluar de cada factor:

Factores:	Niveles
A1 = antioxidante MBS	(+) 0.1 %
	(-) 0.025 %
B = pH	(+) 7
	(-) 4

# de Formulación	A1	B
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+

Aditivo	Orden aleatorio de formulación			
	Formulación 2	Formulación 1	Formulación 3	Formulación 4
Ketoconazol	2%	2%	2%	2%
Clorobutanol	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
Variable A Metabisulfito de sodio	A1 + 0.1%	A1 – 0.025%	A1 – 0.025%	A1 + 0.1%
Alcohol Isopropílico	1%	1%	1%	1%
Propilenglicol	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%
Variable B pH	B – 4	B – 4	B + 7	B + 7

Tabla 10. Experimento I.

PARTE EXPERIMENTAL

En las siguientes tablas se describe el Experimentos II:

Factores:	Niveles
A2 = antioxidante BHT	(+) 0.1 %
	(-) 0.005 %
B = pH	(+) 7
	(-) 4

# de Formulación	A2	B
5	-	-
6	+	-
7	-	+
8	+	+

Aditivo	Orden aleatorio de formulación			
	Formulación 5	Formulación 8	Formulación 7	Formulación 6
Ketoconazol	2%	2%	2%	2%
Clorobutanol	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
Variable A2 Butilhidroxitolueno	A2 – 0.005%	A2 + 0.1%	A2 – 0.005%	A2 + 0.1%
Alcohol isopropílico	1%	1%	1%	1%
Propilenglicol c.b.p.	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%
Variable B pH	B- 4	B + 7	B + 7	B – 4

Tabla 11. Experimento II.

PARTE EXPERIMENTAL

Con la formulación más estable de los experimentos I y II, se hizo una reformulación con el fin de buscar mejores condiciones y obtener una solución óptica transparente libre de partículas extrañas y físicamente estable.

En esta etapa se planteó aumentar la solubilidad del antioxidante; aumentando la concentración del cosolvente, el alcohol isopropílico. En base a las referencias bibliográficas se probó el 5% y 20% dentro de la fórmula encontrada.^{20, 28, 31}

También se incorporó a la fórmula el tween 80 a el 0.3% y se evaluó su efecto dentro la formulación y sin tween.

Cabe mencionar que también se probó tween 60 en la formulación, sin embargo las fórmulas realizadas con este tensoactivo adquirirían un color ámbar y por consecuencia las soluciones realizadas no cumplían con la especificación de la solución óptica deseada.

El diseño de experimentos planteado para el experimento III se esquematiza a continuación.

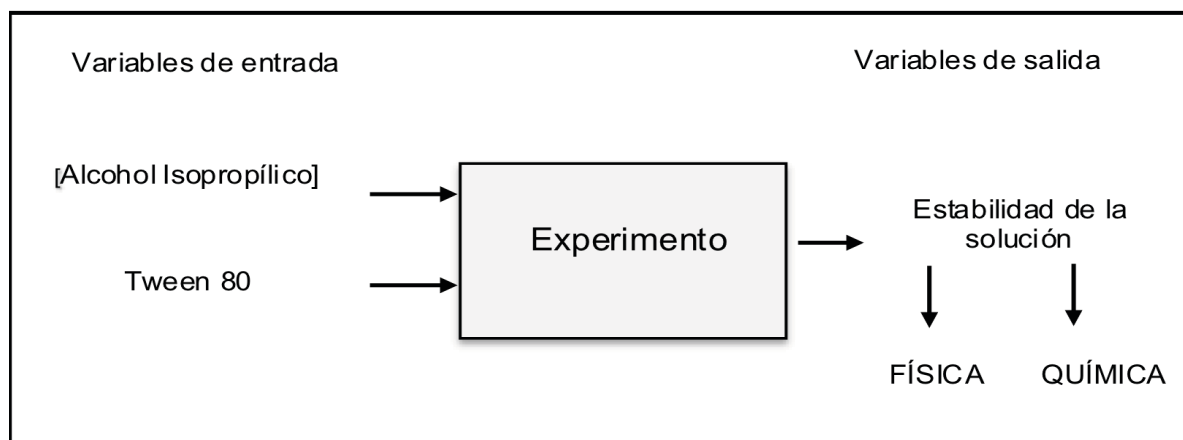


Diagrama 8. Diseño de Experimentos del Experimento III.

PARTE EXPERIMENTAL

En las siguientes tablas se describe el Experimento III:

Factores:	Niveles
C = Tensoactivo Tween 80	(+)0.3 % (-)0 %
D = Alcohol isopropílico	(+) 20% (-) 5%

# de Formulación	C	D
9	-	-
10	+	-
11	-	+
12	+	+

Aditivo	Orden aleatorio de formulación			
	Formulación 11	Formulación 10	Formulación 9	Formulación 12
Ketoconazol 2%	2%	2%	2%	2%
Clorobutanol 0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
Butilhidroxitolueno (BHT) 0.005%	0.005%	0.005%	0.005%	0.005%
Variable C Tween 80	C- 0%	C+ 0.3%	C- 0%	C+ 0.3%
Variable D Alcohol Isopropílico	D+ 20%	D- 5%	D- 5%	D+ 20%
Propilenglicol c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%	c.b.p. 100%

Tabla 12. Experimento III.

PARTE EXPERIMENTAL

Con los resultados obtenidos en el diseño de experimentos se seleccionó la formulación óptima, la cual se sometió a la prueba de ciclado térmico y pruebas de actividad antimicótica *in vitro*, que a continuación se describe.

3. PRUEBA DE CICLADO TÉRMICO

Una vez obtenida la fórmula final se procederá a realizar 3 lotes los cuales se identificarán y se les someterá al siguiente protocolo.

METODOLOGÍA:

1. A partir del proceso de fabricación establecido para la formulación seleccionada, preparar tres lotes de la solución óptica con ketoconazol y acondicionar en el envase primario correspondiente a la tabla 13.
2. En base a las pruebas de control de calidad establecidas en las farmacopeas, para las soluciones ópticas y con el fin de cumplir con los objetivos de este proyecto, los parámetros a evaluar durante este experimento son: aspecto de la solución, pH y variación de volumen.
3. Someter los lotes a las siguientes condiciones de temperatura y analizar a los tiempos establecidos en la siguiente tabla:

PARTE EXPERIMENTAL

Lote	Características del envase	Día	Temperatura	Tiempo de exposición
L1	Envase cilíndrico de polietileno de alta densidad color blanco base plana, translucido, con gotero y tapa, con capacidad de 15 mL.	1	- 4° C	24 hrs.
		2	40° C	24 hrs.
		3	- 4° C	24 hrs.
		4	40° C	24 hrs.
		5	- 4° C	24 hrs.
		6	40° C	24 hrs.
		7	- 4° C	24 hrs.
L2	Envase cilíndrico de vidrio color ámbar, base plana, termoresistente, con gotero de polietileno de alta densidad, dosificador de vidrio transparente y capacidad de 20 mL.	1	- 4° C	24 hrs.
		2	40° C	24 hrs.
		3	- 4° C	24 hrs.
		4	40° C	24 hrs.
		5	- 4° C	24 hrs.
		6	40° C	24 hrs.
		7	- 4° C	24 hrs.
L3	Envase cilíndrico de polietileno de baja densidad, ligeramente opaco de base plana con gotero y tapa, con capacidad de 15 mL.	1	- 4° C	24 hrs.
		2	40° C	24 hrs.
		3	- 4° C	24 hrs.
		4	40° C	24 hrs.
		5	- 4° C	24 hrs.
		6	40° C	24 hrs.
		7	- 4° C	24 hrs.

Tabla 13 Prueba de Ciclado Térmico.

4. PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *IN VITRO*

La evaluación *in vitro* fueron del tipo microbiológicas, cuya finalidad es demostrar la actividad antimicótica de la solución elaborada.

En esta prueba se utilizaron a las especies *C. albicans* y *A. flavus*, que son los principales agentes causales de la otomicosis.^{1, 2, 3, 6, 7}

Cada cepa se caracteriza inicialmente macro y microbiológicamente con el fin de comprobar su pureza y conocer las características morfológicas de las especies en cuestión. Se realizaron dos tipos de prueba ambas en condiciones estériles, las cuales se explican a continuación:

4.1 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN CON DISCOS

La base de esta prueba es inocular a los microorganismos en una placa de agar en donde se observa la resistencia al crecimiento en presencia del agente antimicótico.

El objetivo es que tan pronto como el disco impregnado en el ketoconazol entra en contacto con la superficie húmeda del agar, la solución ótica elaborada se absorbe del papel filtro y el antibiótico se difunde en el medio que lo rodea.

De tal forma que la velocidad de difusión del antibiótico fuera del disco es mayor que su difusión hacia el interior del medio, de modo que la concentración inmediata adyacente al disco puede exceder al mismo disco. A medida que la distancia aumenta hay una reducción logarítmica de la concentración del fármaco.⁵⁵

PARTE EXPERIMENTAL

METODOLOGÍA:

1. Realizar un lote de la solución óptica con ketoconazol (muestra) y un lote de la solución óptica sin el principio activo (blanco de la muestra), por separado y debidamente identificados.
2. Una vez caracterizadas las cepas, resembrar en un tubo de ensayo con agar Sabouraud inclinado e incubar por 24 hrs a *C. albicans* y a la especie de *A. flavus* por 7 días a 35°C.
3. Terminando el periodo de incubación en el caso de *C. albicans* tomar 5 colonias con un asa estéril, con la misma morfología y tamaño. Posteriormente adicionar el inóculo en un tubo de ensayo con 10 mL de caldo Sabouraud. Para el caso de *A. flavus* se utilizar 1 mL del caldo Sabouraud y adicionar al tubo inclinado, mezclar el caldo con las coníferas del hongo en crecimiento, verter la suspensión de coníferas en un tubo de ensayo con 9 mL de caldo Sabouraud. Ambos tubos etiquetarlos como cepas patrón de *C. albicans* y *A. flavus* respectivamente.
4. Preparación del inóculo: Separar 9 mL de medio de caldo Sabouraud como D1, D2 y D3 en tubos de ensayo, en condiciones estériles y previamente etiquetados. Tomar una alícuota de 1 mL de la cepa patrón y adicionarla en un tubo de ensayo con 9 mL del caldo Sabouraud, siendo esta la primera dilución (D1); posteriormente tomar una alícuota de 1 mL la dilución D1 y adicionarla en 9 mL de caldo Sabouraud, siendo esta la dilución (D2). Finalmente a partir de la dilución D2, tomar una alícuota de 1 mL y adicionarla en un tubo de ensayo con 9 mL de caldo Sabouraud para realizar la dilución (D3).

PARTE EXPERIMENTAL

5. Tratamiento del inóculo: una vez realizadas estas diluciones colocar 1 mL de cada dilución sobre una caja Petri estéril, cada una previamente marcadas con la respectiva dilución. Este procedimiento se realiza por triplicado para cada dilución; hacer un control positivo utilizando 1 mL de cepa patrón realizada y verterlo en una caja Petri marcada como control positivo.

6. Realizar dos controles negativos para evaluar al medio de cultivo al inicio y al final de todo el proceso.

7. Verter en cada caja el medio Sabouraud agar a una temperatura aproximada de 30-40°C, homogenizar la mezcla con movimientos circulares y dejar gelificar el agar (ver el diagrama 9).

8. Colocar los discos de papel filtro con un diámetro de 6 mm impregnados con la solución óptica muestra o blanco de la muestra según sea el caso (ver diagrama 10).

9. Dejar reposar durante 20 min para asegurar que se lleve acabo la difusión.

10. A las cajas con *C. albicans* incubar durante 48 h a 35 - 38°C y las cajas de *A. flavus* incubar por 7 días a 28°C.

Interpretación de las placas: se considera como una inhibición positiva halos de 15 mm de diámetro.³⁵

PARTE EXPERIMENTAL

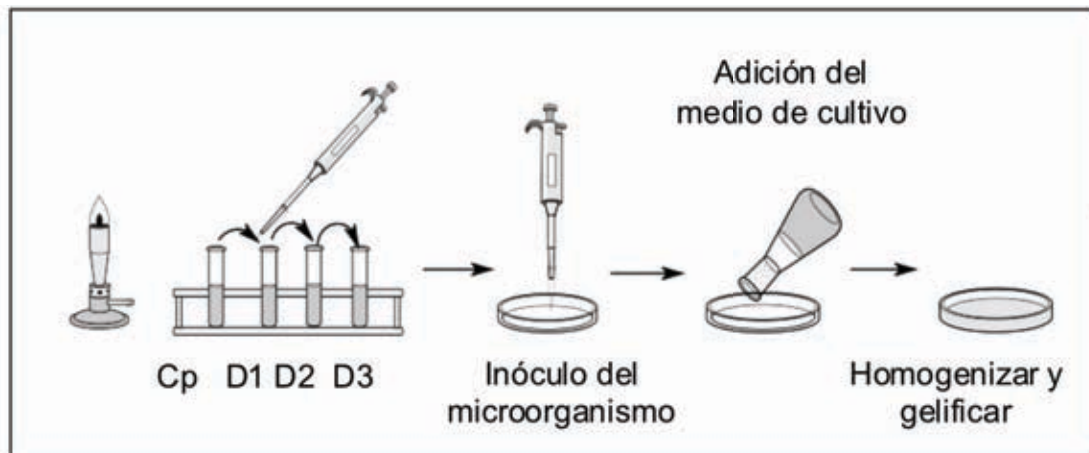


Diagrama 9. Diluciones y resiembra del inóculo.

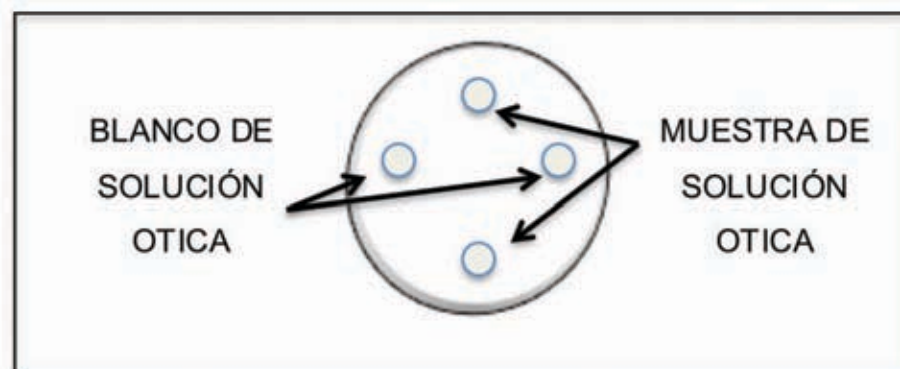


Diagrama 10. Orden de discos en las cajas de cultivo.

PARTE EXPERIMENTAL

A continuación se muestra el diagrama del procedimiento para prueba de sensibilidad por difusión con discos.

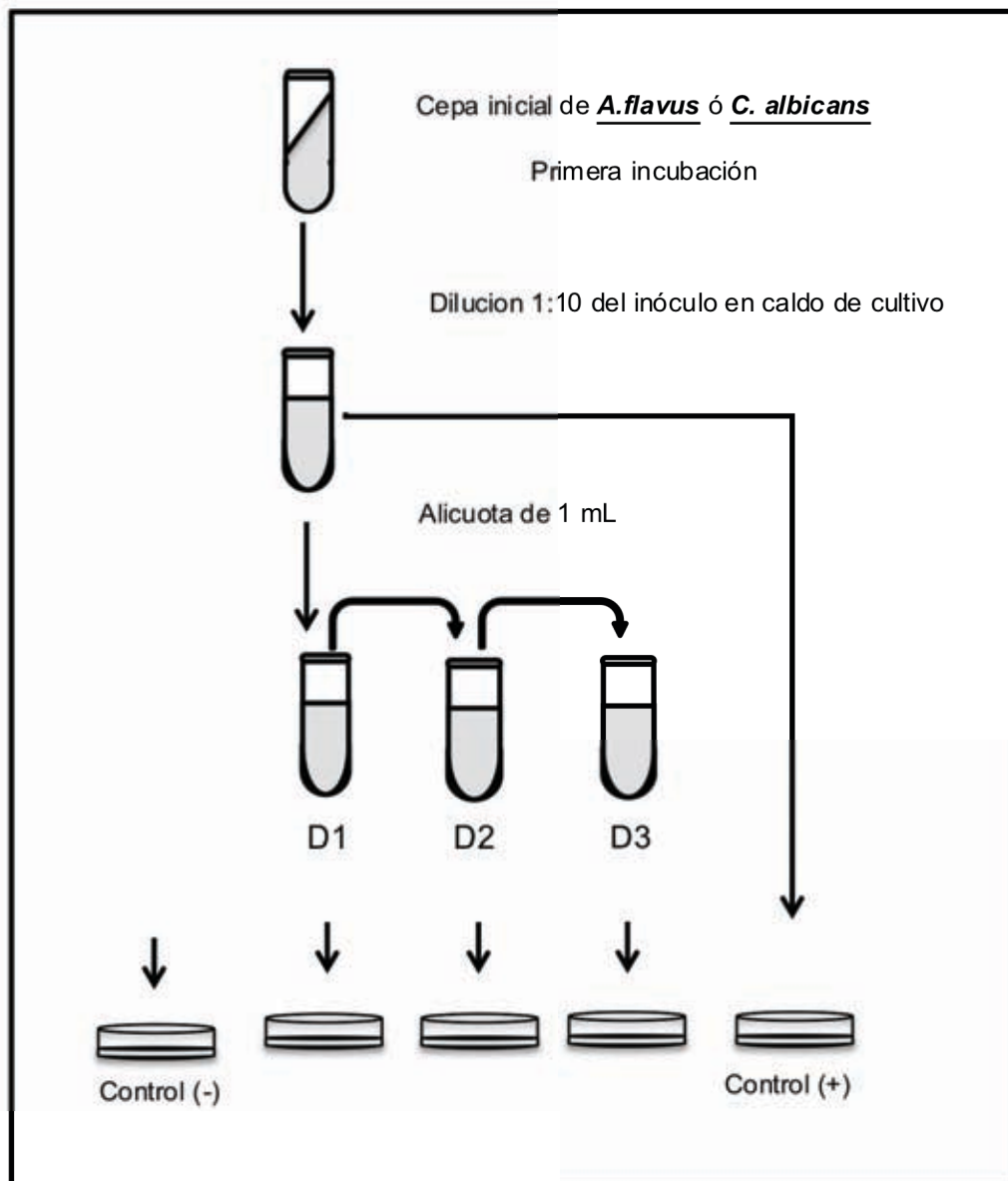


Diagrama 2. Orden de discos en las cajas de cultivo.

PARTE EXPERIMENTAL

4.2 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DILUCIÓN EN CALDO

En este método se realizan diluciones seriadas del agente antimicrobiano en caldo a partir de una suspensión bacteriana. Después se adiciona el antimicótico utilizando una muestra control que no contenga el agente antimicótico.

Una vez concluido del periodo de incubación los tubos son examinados a simple vista, a fin de observar la turbidez que indica que el crecimiento microbiano no ha sido inhibido por la concentración de antibiótico contenida en el medio.^{35, 55}

METODOLOGÍA:

1. Realizar un lote de la solución ótica con ketoconazol (muestra) y un lote de la solución ótica sin el principio activo (blanco)
2. Una vez caracterizadas las cepas resembrar en un tubo de ensaye con agar Sabouraud inclinado y se dejan incubar por 24 hrs a *C. albicans* y a la especie de *A. flavus* por 7 días a 35°C.
3. Terminando el periodo de incubación en el caso de *C. albicans* se debe tomar 5 colonias con un asa estéril, con la misma morfología y tamaño, posteriormente adicionar el inculo en un tubo de ensayo con 10 mL de caldo Sabouraud. En el caso de *A. flavus* se utilizar un 1 mL del caldo Sabouraud y adicionarlo a el tubo inclinado; mezclar el caldo con las coníferas del hongo en crecimiento y verter la suspensión de coníferas en un tubo de ensaye con 9 mL de caldo Sabouraud para obtener una cepa patrón de 1:10 de cada especie. Ambos tubos etiquetarlos como cepas patrón de *C. albicans* y *A. flavus* respectivamente.

PARTE EXPERIMENTAL

4. Preparación del inóculo: Separar 9 mL de medio de caldo Sabouraud en tubos de ensayo en condiciones estériles y previamente etiquetados D1, D2 y D3. Tomar una alícuota de 1 mL de la cepa patrón, la cual se adiciona en el tubo de ensayo, siendo esta la primera dilución 1:100 (D1). Posteriormente tomar una alícuota de 1 mL la dilución D1 y adicionarla en 9 mL de caldo Sabouraud, siendo esta la dilución 1:1000 (D2). Finalmente a partir de la dilución D2, tomar una alícuota de 1 mL y adicionarla a un tubo de ensayo con 9 mL de caldo Sabouraud, para realizar la dilución 1:10,000 (D3). Realizar este procedimiento seis veces para cada especie.

5. Después del término de incubación, con cada especie utilizada apartar tres series con sus respectivas diluciones, que corresponderán a los lotes de muestra y tres series a el blanco. Las cepas patrón servirán como control del crecimiento positivo de tal forma que no se le adiciona ninguna muestra.

6. Adicionar a los tubos marcados como muestra adicionar 0.25 mL de la solución ótica con ketoconazol equivalente a 500 µg del principio activo, de igual forma adicionar a las series marcadas como blanco 0.25 mL de la solución ótica blanco. Incubar según corresponda para cada especie. En el caso de *C. albicans* 48 h a 35°C y para la especie *A. flavus* 7 días a 28°C.

7. Al termino de la incubación realizar una resiembra de cada tubo; sembrando en agar Sabouraud por estría cruzada etiquetando cada caja según corresponda y reportando el resultado en cruces de crecimiento.

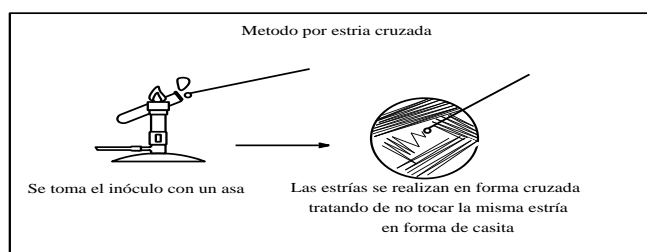


Diagrama 12. Método de Resiembra por estría cruzada.

PARTE EXPERIMENTAL

A continuación se muestra el diagrama de la prueba de sensibilidad por dilución en caldo.

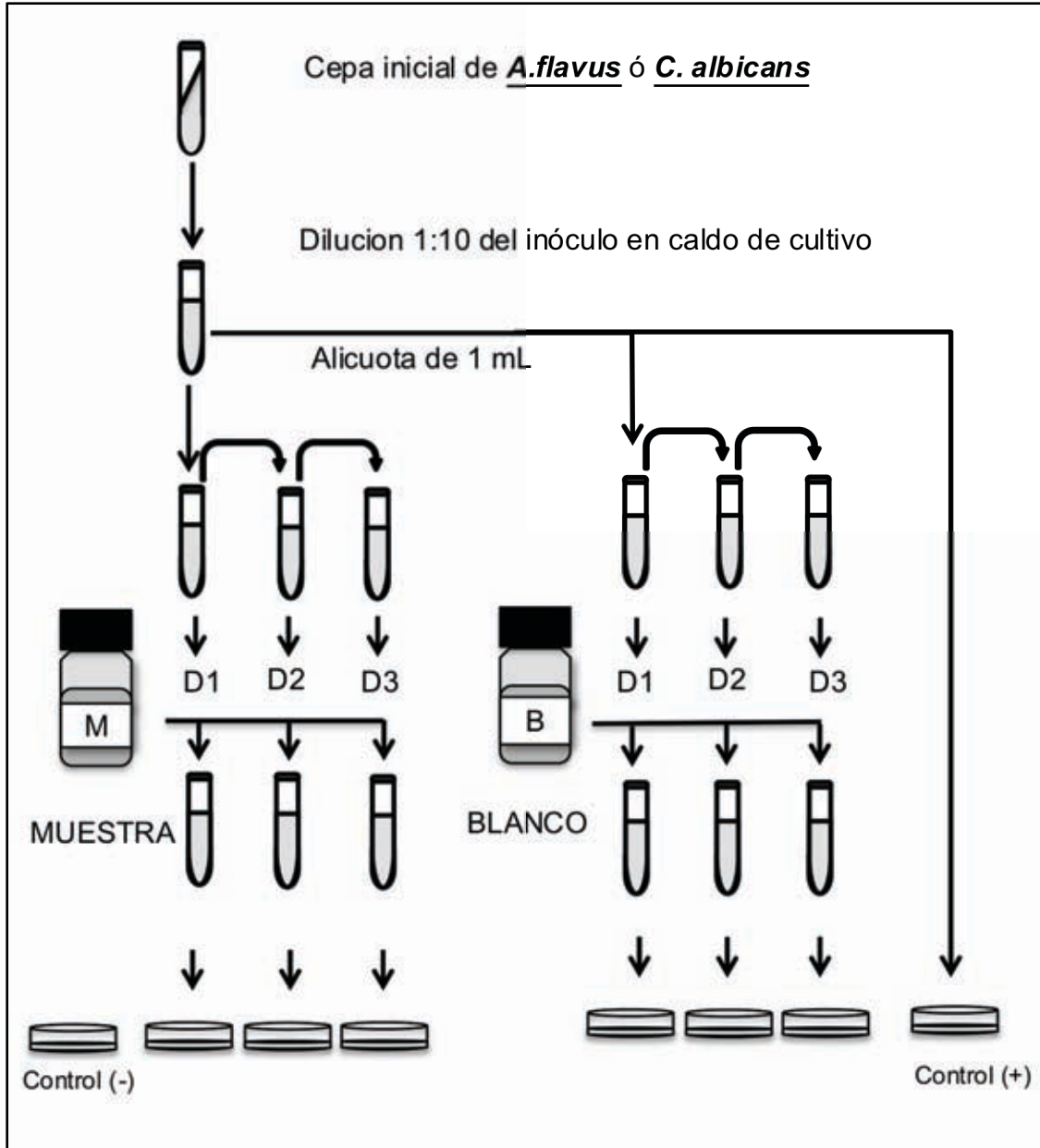


Diagrama 13. Prueba de sensibilidad por dilución en caldo.

Capítulo 3

RESULTADOS

Y

ANÁLISIS

RESULTADOS Y ANÁLISIS

1. PREFORMULACIÓN

1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRINCIPIO ACTIVO

❖ DESCRIPCIÓN:

Polvo cristalino amorfo, color blanco e inodoro	√ Cumple con especificaciones según FEUM 10 a ed. ^{29, 30}
---	---

❖ PUNTO DE FUSIÓN:

148-152 °C	√ Cumple con especificaciones según FEUM 10 a ed. ^{29, 30}
------------	---

❖ TAMAÑO DE PARTÍCULA

Esta determinación fue realizada por triplicado, codificando cada experimento se manejó como I, II y III respectivamente.

Los resultados obtenidos expresados en porcentaje se muestran a continuación en la siguiente tabla:

No. de Malla	Abertura de la malla (µm)	Peso retenido por la malla (g)			% Acumulado del peso retenido			%Acumulado del peso que pasa por a malla			DE
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	
20	840	0.100	0.100	0.200	1.00	1.00	2.00	99.00	99.00	98.00	0.6
40	420	0.400	0.500	0.400	5.00	6.00	6.00	95.00	94.00	94.00	0.6
60	250	0.400	0.400	0.600	9.00	10.00	12.00	91.00	90.00	88.00	1.2
80	177	0.600	0.700	0.800	15.00	17.00	20.00	85.00	83.00	80.00	1.0
100	149	3.600	3.800	3.600	51.01	54.99	56.00	48.99	45.01	44.00	1.1
150	105	3.000	2.900	2.800	81.02	83.98	84.00	18.98	16.02	16.00	1.0
BASE	---	1.900	1.600	1.600							1.7
Peso total		9.998	10.002	10.000							

Tabla 14. Resultados del tamaño de partícula.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

A continuación se muestra las gráficas de distribución del principio activo según su tamaño de partícula:

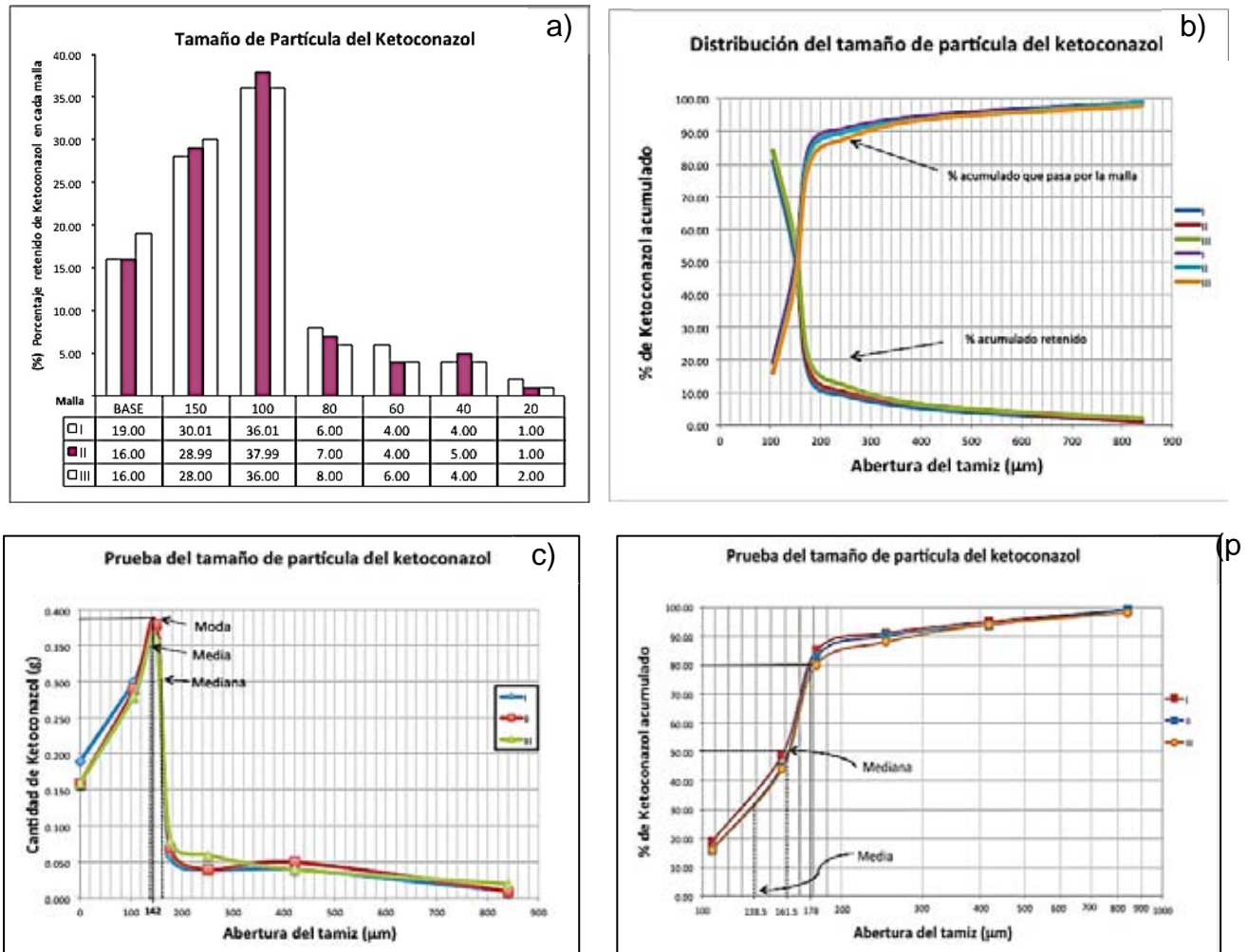


Figura 15. a) Histograma de distribución de tamaño de partícula graficando el por ciento retenido por número de malla, b) Gráfica de por ciento acumulado y por ciento retenido de ketoconazol con respecto al diámetro de abertura de la malla, c) Gráfica de la cantidad retenida en gramos de ketoconazol con respecto a su número de malla, d) Gráfica del por ciento acumulado de ketoconazol con respecto a su distribución logarítmica del diámetro de abertura de la malla.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el histograma (gráfica a) se puede observar que el tamaño de partículas sigue una distribución normal con sesgo hacia la izquierda, de manera que podemos decir que el diámetro medio de las partículas de ketoconazol se encuentra entre las mallas 80 (177 μm) y 150 (105 μm).

Se observan en las gráficas c) y d) los valores de: moda =142 μm y mediana = 138.5 μm ; y donde el 80% de las partículas de ketoconazol ocupan un diámetro menor de 178 μm .

Utilizando las Ecuaciones 21, 22, 23, 24 y 25 se obtuvo que las partículas de ketoconazol para la muestra analizada presentan una media aritmética verdadera = 138.5 μm , con diámetro de superficie = 182.75 μm , diámetro de volumen = 238.69 μm y diámetro geométrico de 64.02 μm .

Al interpretar los datos obtenidos con respecto a la Tabla 2 del anexo de generalidades; podemos clasificar las partículas como sólidos finos, de tal forma que se tendrá mayor superficie de contacto y por ende la disolución del principio activo será más rápida.³⁰

RESULTADOS Y ANÁLISIS

❖ SOLUBILIDAD

Disolvente	Peso del ketoconazol (g)	Resultado	Cantidad de disolvente utilizado (mL)	RESULTADO según especificación FEUM 10ª ed.
Cloruro de metileno	1.001	Muy soluble	1	✓ Cumple
Metanol	1.006	Soluble	30	✓ Cumple
Etanol	1.000	Ligeramente soluble	> 80	✓ Cumple
Agua	0.050	Casi insoluble	> 500	✓ Cumple

Tabla 15. Evaluación de solubilidad de ketoconazol en diferentes disolventes.

La molécula de ketoconazol tiene características poco polares por lo que es fácil disolver en disolventes polares; esta propiedad nos permite seleccionar a el o los cosolventes que pueden formar parte de la formulación en solución óptica deseada.

La prueba de solubilidad.	✓ Cumple con especificaciones según FEUM 10 a ed. ^{14, 19}
---------------------------	---

RESULTADOS Y ANÁLISIS

1.2 ESTABILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO.

Los resultados de las cromatografías en capa fina realizados en la prueba de estabilidad, se muestran a continuación:



Imagen 1. Foto de la CCF respectiva a la prueba de estabilidad del ketoconazol en distintas condiciones de almacenaje, (1) temperatura ambiente y presencia de la luz, (2) temperatura ambiente y protegido de la luz, (3) Temperatura de 2-8°C en presencia de luz,(4) temperatura de 2-8°C y protegido de la luz, (5) temperatura de 60°C y en presencia de la luz, (6) temperatura de 60°C y protegido de la luz, Ct₁ corresponde a una solución de ketoconazol al 10 mg/mL en cloroformo y Ct₂ a corresponde a una solución de ketoconazol al 1 mg/mL en cloroformo

Todos los resultados obtenido en las cromatografías en capa fina CCF fueron reportados en tablas; donde R₁ es la distancia recorrida de la fase móvil en cm, R₂ es la distancia recorrida del ketoconazol o bien de la muestra a analizar en cm y R_f es factor de retraso de cada muestra o del principio activo, calculado con la ecuación 1.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

		MUESTRA									
		Ct ₁	Ct ₂	1	2	3	4	5	6	Ct ₁	Ct ₂
PLACA: 1	R1	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.8	3.75	3.8	3.8
	R2	1.0	0.95	0.85	1.1	1.1	1.2	1.0	1.1	1.0	1.2
	Rf	0.26	0.25	0.22	0.29	0.29	0.32	0.26	0.29	0.26	0.32
PLACA: 2	R1	4.95	4.9	4.9	4.85	4.9	4.8	4.85	4.85	4.9	4.9
	R2	1.1	1.0	1.0	0.95	0.95	0.9	0.95	0.95	1.0	1.0
	Rf	0.22	0.20	0.20	0.20	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20

Tabla 16. Resultados de Rf, obtenidos en las CCF en la prueba de estabilidad.

Muestra	Peso (g)	Observaciones
1	0.100	El principio activo se torna ligeramente de color amarillo muy desde el día 3 que se acentúa al término del experimento.
2	0.100	No se observan cambios en el principio activo bajo esta condición.
3	0.101	Se observa un cambio de color en el principio activo que va de un color ligeramente amarillo al término del experimento.
4	0.100	No se observan cambios en el principio activo.
5	0.100	Se observa un cambio de color del principio activo desde el día 2 de un color amarillo a un color café.
6	0.101	Se observa un cambio de color del principio activo a un color amarillo en el día 5.

Tabla 17. Observaciones de la prueba de estabilidad.

En las placas de cromatografía no hay diferencia con respecto al Rf de los controles de ketoconazol obtenido, sin embargo se observa que la muestra se torna de color blanco a un color ligeramente amarillo hasta una coloración café en las muestras 1, 3, 5 y 6.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Las mejores condiciones en este experimento son 2 y 4, por lo que se recomienda almacenar en empaques herméticamente cerrados, protegidos de la luz y temperaturas menores de 60°C; esto concuerda con reportado en la bibliografía y con las recomendaciones farmacopeicas.

1.3 PRUEBA DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de la prueba de degradación del ketoconazol:

MUESTRA:	Ct ₁	A	a	B	b	C	c	Ct ₂
R1	4.0	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9
R2	1.1	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Rf	0.30	0.0	0.0	0.30	0.0	0.0	0.0	0.30
Placa 2								
MUESTRA:	Ct ₁	A	a	B	b	C	c	Ct ₂
R1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1
R2	0.8	0.0	1.0	0.8	0.0	0.0	0.1	0.7
Rf	0.26	0.0	0.0	0.26	0.0	0.0	0.0	0.23

Tabla 18. Prueba de degradación del principio activo, donde el resultado de Ct₁ corresponde al control de ketoconazol al 10mg/mL, (A) al ketoconazol bajo condiciones acidas, (a) a H₂SO₄ 7N, (B) al ketoconazol bajo condiciones básicas, (b) a NaOH 7N, (C) al ketoconazol bajo condiciones oxidantes, (c) al H₂O₂ 30% y Ct₂ al control de ketoconazol al 1mg/mL.

RESULTADOS Y ANÁLISIS



Placa 1

Placa 2

Imagen 2. Foto de las placas de CCF en la prueba de degradación del ketoconazol en condición ácida, básica y oxidante.

Los blancos utilizados durante esta prueba no tienen ninguna mancha de corrimiento, lo que pone en manifiesto que no existe alguna impureza en los reactivos que interfiera con el análisis.

En las condiciones ácida y oxidante no se observa la presencia de alguna mancha que coincida con la referencia, lo que nos sugiere inestabilidad del principio activo en estas condiciones.

En medio básico el principio activo presenta una cola de arrastre mayor a la de la referencia y el Rf de la muestra se encuentra abatido en esta prueba.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

De manera que con estos experimentos se puede inferir que el ketoconazol es inestable en condiciones ácidas y oxidante, siendo más estable en condiciones básicas.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

1.4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se planeó desarrollar una solución ótica no acuosa, transparente y libre de partículas extrañas; que contenga una concentración de ketoconazol del 2%.

Sin embargo el principal problema a resolver dentro del desarrollo experimental es la inestabilidad del principio activo, dado que el ketoconazol se oxida y además sufre hidrólisis ácida y básica.

De tal manera que es necesario adicionar a la formulación de la solución un agente antioxidante y determinar el pH óptimo de la solución. Se realizaron las pruebas de preformulación con el fin de encontrar los excipientes adecuados para la solución ótica e indicar las condiciones óptimas de formulación.

1.5 COMPATIBILIDAD DE EXCIPIENTES

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la prueba de compatibilidad de excipientes el cual fue promediado y comparado con los controles de ketoconazol del día 1 al día 30 en la siguiente tabla:

RESULTADOS Y ANÁLISIS

;

Rf obtenidos de las CCF en la prueba de compatibilidad de fármaco-excipiente.																		
Día	Muestra																	
	Ct ₁	Ct ₂	A (AI)	B (AC)	C (AE)	D (Pg)	E (Tw80)	F (Tw60)	G (BS)	H (GI)	I (Ag)	J (PL)	K (Mp)	L (Pp)	M (Y4)	N (BHT)	O (MBS)	P (CI-B)
1	0.36	0.41	0.33	0.29	0.29	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.29	0.32	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.32
7	0.27	0.22	0.22	0.20	0.24	0.22	0.22	0.24	0.22	0.24	0.20	0.22	0.31	0.31	0.24	0.24	0.24	0.24
7	0.22	0.17	0.17	0.17	0.19	0.17	0.19	0.19	0.19	0.22	0.22	0.19	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
14	0.31	0.31	0.29	0.29	0.29	0.35	0.21	0.25	0.29	0.19	0.29	0.31	0.31	0.31	0.27	0.29	0.29	0.29
14	0.28	0.26	0.28	0.26	0.25	0.32	0.23	0.25	0.19	0.28	0.28	0.28	0.28	0.25	0.23	0.28	0.28	0.28
21	0.56	0.48	0.48	0.50	0.48	0.46	0.48	0.50	0.48	0.48	0.50	0.37	0.46	0.46	0.00	0.48	0.48	0.48
21	0.54	0.55	0.46	0.50	0.50	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.51	0.32	0.53	0.55	0.00	0.51	0.51	0.51
30	0.61	0.59	0.55	0.00	0.00	0.64	0.57	0.57	0.50	0.57	0.59	0.59	0.61	0.68	0.00	0.59	0.59	0.61
30	0.66	0.75	0.71	0.00	0.00	0.71	0.62	0.73	0.65	0.71	0.71	0.73	0.69	0.69	0.00	0.71	0.69	0.69

Tabla 1. Resultados del estudio de compatibilidad del fármaco con el excipiente evaluado por 30 días.

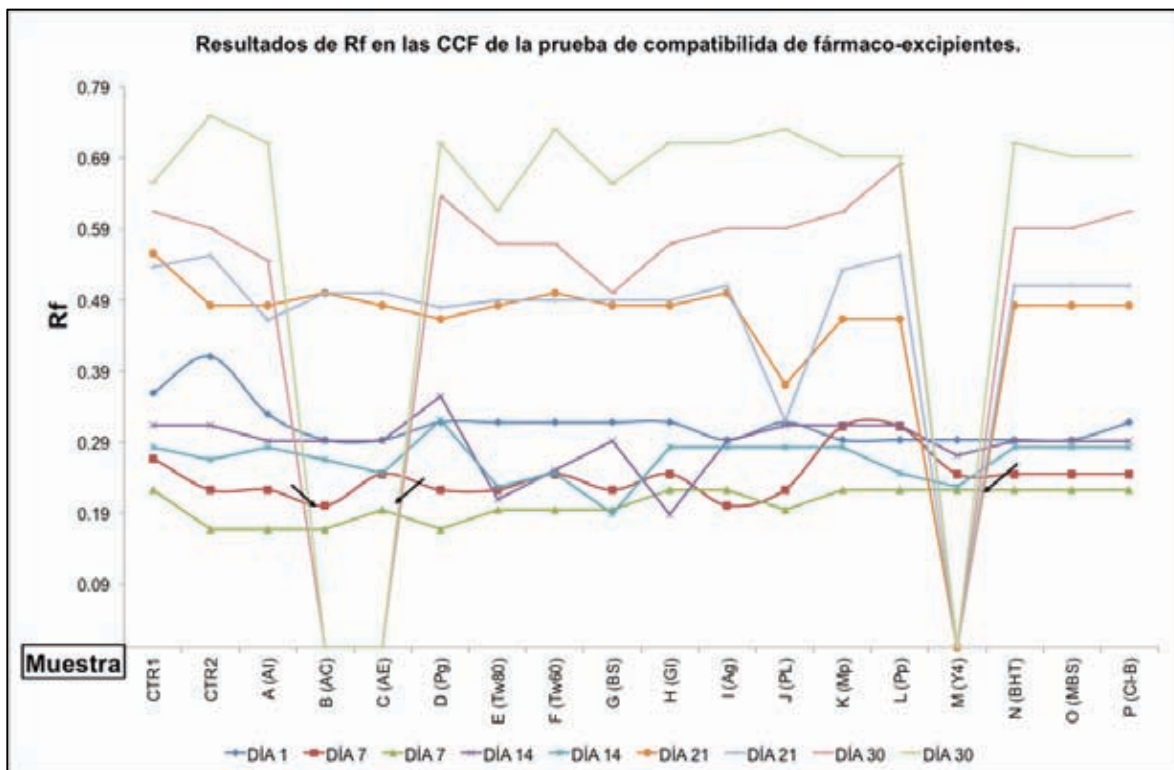
En esta tabla se muestran los resultados obtenidos en la prueba de compatibilidad del ketoconazol, donde: A (AI) es alcohol isopropílico, B (AC) alcohol cetílico, C (AE) alcohol estearílico, D (PG) propilenglicol, E (Tw80) tween 80, F (Tw60) tween 60, G (MB) bisulfito de sodio, H (GI) glicerina, I (Ag) agua, J (PL) parafina líquida, K (Mp) Metilparabeno, L (Pp) Propilparabeno, M (Y4) Etilendiamina tetracetato de sodio EDTA, N (BHT) Butilhidroxitolueno, O (MBS) Metabisulfito de sodio y P (CI-B) Clorobutanol. Los valores de Ct1 corresponde al control de ketoconazol de 10mg/mL y Ct2 al control de ketoconazol de 1mg/mL.

;

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En la siguiente gráfica se muestran los resultados obtenidos en las CCF realizadas en la prueba de compatibilidad de fármaco–excipiente con su respectivo valor de Rf el cual fue comparado los controles de ketoconazol preparados el mismo día del análisis.

Gráfica 1 Prueba de Compatibilidad con excipientes



Las flechas negras señalan un Rf=0, lo que indica que el ketoconazol sufre inestabilidad química con este excipiente y no se recomienda su uso dentro la formulación.

A continuación se reportan en la siguiente tabla las observaciones realizadas durante la prueba de compatibilidad de fármaco-excipiente:

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Excipiente		Observaciones en:	
		CCF	Aspecto físico de la mezcla fármaco-excipiente
A	AI	Desde el día 28 se observa que la mancha tenue y difusa	A los días 30 la muestra presenta un ligero color amarillo
B	AC	En el día 28 la mancha es tenue, en el día 30 ya no se detecta	La muestra presenta color ligeramente amarillo desde el día 21
C	AE	Desde el día 7 la mancha es tenue, pero desaparece al día 30	La muestra presenta color amarillo al día 30
D	PG	El día 30 se observa la mancha tenue	La muestra presenta un ligero color amarillo desde el día 30
E	TW80	Desde el día 7 la mancha presenta una cola de barrido corta que se observa más alargada el día 30	La muestra presenta color amarillo desde el día 14
F	TW60	Desde el día 7 la mancha presenta una cola de barrido corta	La muestra presenta color amarillo desde el día 14
G	BS	Desde el día 7 se observan dos manchas una que corresponde a los controles de ketoconazol y la otra amplia en el punto de aplicación	La muestra presenta color amarillo-rojizo desde el día 14
H	GL	No se observa cambio con respecto a los controles de ketoconazol	La muestra no presenta cambios de coloración
I	Ag	En el día 14 se observan dos manchas, una que corresponde a los controles y otra ligeramente desfasada. Para el día 30 se ve más pronunciada	La muestra presenta color ligeramente amarillo desde el día 7 el cambia a rojo el día 30
J	PL	En el día 21 se observa que la mancha difusa y una cola de arrastre muy pronunciada en el punto de aplicación de la muestra	No se observa cambios de coloración
K	Mp	La mancha de la muestra se ve tenue desde el día 21	El día 7 la muestra tiene un aspecto amarillo, para el día 21 se ha formado una masa chiclosa y rojiza
L	Pp	La mancha tiene una cola de corrimiento en el día 14, y para el día 21 se redujo la intensidad de la mancha	El día 7 la muestra tiene un aspecto amarillo, para el día 21 se ha formado una masa chiclosa y rojiza
M	Y4	Desde el día 7 la mancha de la muestra presentan una cola de arrastre. Para el día 14, no se percibe la mancha	El día 7 la muestra se observa ligeramente amarilla, para el día 14 la muestra están completamente roja
N	BHT	En el día 30 la mancha de la muestra se observa muy tenue con respecto a los controles del principio activo	La muestra no presenta cambios de coloración
O	MBS	La muestra presenta una cola de arrastre desde el día 21	No se observa cambios de coloración
P	CL-B	El día 21 y 30 la mancha se observo ligeramente tenue	La muestra presenta un ligero color amarillo en el día 30

Tabla 2. Resumen de resultados de la prueba de compatibilidad con excipientes.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En las muestra B, C, y M el principio activo sufrió cambios notables: estas muestras que inicialmente era blancas o incoloras cambiaron a un color rojo. En las CCF los Rf de las muestras en los días 21 y 30 son igual a cero por lo que existe una incompatibilidad entre el excipiente y el principio activo.

Las muestras A, D y P correspondientes al alcohol isopropílico, el propilenglicol y el clorobutanol respectivamente presentan mejor estabilidad comparadas con las muestras B, C y M. Sin embargo esta estabilidad no es suficiente por lo que al final de este experimento se comienza a observar un cambio en la coloración de la muestra, poniendo de manifiesto la incompatibilidad de los excipientes con el ketoconazol.

Las muestras E y F correspondientes al Tween 80 y Tween 60 se observa un corrimiento en las manchas de las muestras lo que puede sugerir algún tipo de interacción con el principio activo o bien que en la el mezcla ketoconazol adquiere diferente afinidad en la CCF. Se sugiere utilizar un método más sensible con el fin de corroborar una posible incompatibilidad química. Por otra parte el color amarillo puede deberse a la inestabilidad del principio activo o a la presencia del tween, ya que éste último proporciona un color amarillo a la solución.

En la muestra I donde se utilizó agua se observan dos manchas, una correspondiente al control y otra muy difusa que se presenta desde el día 14. Esta mancha puede deberse a la hidrólisis del ketoconazol, la cual se acelera en medio acuoso.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

La muestra G que corresponde al bisulfito de sodio, presenta desde el día 7 dos manchas; una que corresponde a los controles del ketoconazol y otra en el punto de aplicación. Esta última mancha se presentó durante todo el análisis y fue más evidente el día 30. La muestra tuvo cambios desde el día 7 de un color amarillo a un rojo intenso, indicando que existe incompatibilidad del principio activo y excipiente. Es evidente que el bisulfito de sodio al ser una sal ácida provoca inestabilidad en el principio activo, de tal forma que no debe considerarse usarse dentro de la formulación.

Las muestras K y L correspondientes al metil y propil parabeno, presenta claramente inestabilidad de tipo física, dado que las muestras inicialmente blancas comenzaron a formar una mezcla chiclosa que era difícil de manejar; mostrando la inestabilidad del principio activo ante estos excipientes. Este resultado puede deberse a que ambos excipientes presentan características ácidas, lo que indujo la hidrólisis del ketoconazol. Esto se evidenció en las placas cromatográficas: las manchas correspondientes al muestra van reduciendo su intensidad pero aún se observan hasta el día 30.

La muestra H, J, N y O correspondiente a la glicerina, parafina líquida, BHT y MBS respectivamente; no presentan un cambio físico o químico detectable hasta el día 30 y en las CCF se observan las manchas iguales a la de los controles, por lo que aparentemente estos excipientes son estables ante el principio activo.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Estos resultados nos indican que podríamos utilizar a los excipientes A, D, E, F, H, I, J, N, O y P; siempre y cuando modulemos los cambios de oxidación y pH con el fin de mejorar la estabilidad entre el ketoconazol y estos excipientes.

Los excipientes B, C, G, K, L y M debido a su naturaleza ácida no deben incluirse en la formulación ya que pueden provocar o inducir la degradación del principio activo.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

2. FORMULACIÓN

2.1 DISEÑO DE LA FORMULACIÓN

DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO EN DIFERENTES SOLVENTES.

Se evaluó la solubilidad de 2g de ketoconazol en función del tiempo con dos de los disolventes utilizados en soluciones óticas a temperatura de 30-35 °C, utilizando una velocidad de agitación constante. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

PRUEBA	Condición.	RESULTADO
D1	Glicerina.	-
D2	Propilenglicol.	++
D3	Glicerina: propilenglicol (proporción 7:3).	+/-
D4	Glicerina: propilenglicol (proporción 6:4).	+
D5	Glicerina: propilenglicol (proporción 5:5).	+
D6	Glicerina: propilenglicol (proporción 4:6).	+
D7	Glicerina: propilenglicol (proporción 3:7).	++

Tabla 21. Resultados de la prueba de solubilidad del ketoconazol en diferentes vehículos.

(-) no fue posible disolverlo a los 90 min, (+/-) se disolvió pero requirió más de 60 min,
(+) se disolvió a los 60 min y (++) se disolvió a los 30 min.

Las condiciones que resultaron más adecuadas para disolver al ketoconazol fueron:

D2 Propilenglicol.

D7 Glicerina / Propilenglicol 3:7.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

El determinar la solubilidad del ketoconazol en distintas condiciones de disolventes tiene como objetivo encontrar el vehículo óptimo para solubilizar al principio activo; de tal forma que al aumentar la cantidad de propilenglicol aumenta la solubilidad del ketoconazol, por lo que se propuso trabajar usando como vehículo de la formulación el propilenglicol.

De acuerdo los resultados obtenidos se estableció la fórmula inicial (Fi):

ADITIVO	Fi	Cantidad
Principio Activo	Ketoconazol	2%
Conservador	Clorobutanol	0.5%
Cosolvente	Alcohol isopropílico	1%
Vehículo	Propilenglicol	c.b.p. 100%

Tabla 22. Excipientes presentes en Fi.

La fórmula Fi fue sometida al diseño de experimentos donde se evaluó el tipo de antioxidante a utilizar y el pH de la formulación.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Como se estableció en el apartado del diseño de experimentos se tomaron como variables de control el tipo de antioxidante (A), la concentración del mismo y el pH del vehículo (B), partiendo de una fórmula Fi como propuesta inicial.

Nota aclaratoria: fue difícil ajustar el pH de la formulación debido a que al disminuir el pH y ajustarlo a 4, la formulación adquiriría un color rojo intenso; por lo que se modificó el pH del vehículo antes de iniciar la formulación y el nivel bajo en el diseño de experimentos a pH=5.0

Los resultados de los experimento 1 y 2 se reportan en la siguiente tabla:

Formulación	pH del vehículo	Concentración del antioxidante	Rf	Rf	Aspecto de la solución*
1	5.0	MBS 0.025%	0.31	0.30	√Cumple
2	5.0	MBS 0.1%	0.29	0.31	√Cumple
3	7.0	MBS 0.025%	0.31	0.31	√Cumple
4	7.0	MBS 0.1%	0.32	0.30	√Cumple
5	5.0	BHT 0.005%	0.32	0.31	√Cumple
6	5.0	BHT 0.1%	0.31	0.31	√Cumple
7	7.0	BHT 0.005%	0.31	0.30	√Cumple
8	7.0	BHT 0.1%	0.32	0.30	√Cumple
Control	Se utilizo como estándar una solución de ketoconazol al 2% en Cloroformo en las CCF.		0.31	0.30	-----
Control			0.32	0.31	-----

Tabla 23. Resultados de los experimentos I y II.

*Solución transparente, libre de partículas extrañas.

El MBS se incorporó perfectamente al momento de la elaboración, no obstante al pasar dos días aparece un precipitado de color blanco en todas las muestras con MBS.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

El BHT tardó en solubilizarse sin embargo las muestras de este antioxidante permanecieron estables hasta el día 8, donde se observa una ligera opalescencia; por lo que se siguió revisando diariamente las formulas hasta por 45 días.

Con respecto a los resultados obtenidos durante la elaboración de las soluciones, las CCF de las muestras no presentan alguna diferencia marcada al compararse el Rf de la mancha de la muestra con los Rf de los controles.

En base a los resultados obtenidos, se asignó un valor numérico a las observaciones obtenidas (y1 a y12) en este experimento de la siguiente manera:

Valor	Aspecto de la solución
1	Solución transparente, libre de partículas extrañas.
0	Solución opalescente o con indicios de precipitado.

Formulación	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 15	Día 20	Día 26	Día 45
	y1	y2	y3	y4	y5	y6	y7	y8	y9	y10	y11	y12
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
8	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0

Tabla 24. Observaciones del aspecto de la solución en los experimentos I y II.

El antioxidante A2 (BHT) correspondiente en las formulaciones de la 5 a la 8, es más estable que el A1 (MBS); por lo que las observaciones obtenidas fueron sometidos al análisis por el método de contrastes ortogonales, con el fin de evaluar que factor influye sobre la estabilidad de la formulación.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

2.2 HIPÓTESIS

A continuación se propone las hipótesis para evaluar el factor que influye sobre el aspecto de la solución:

Hipótesis nula (H_0): el aspecto de la solución no depende de la cantidad de BHT (A2) o del pH usado (5 y 7).

Hipótesis alternativa (H_a): el aspecto de la solución depende de la cantidad de BHT (A2) o bien del pH usado (5 y 7).

Por lo que F_0 para cada factor calculado, será menor a la F_t de tablas.

H_0 : F_0 para el factor A2 < F_t al 0.95% = 1.67

H_a : F_0 para el factor A2 > F_t al 0.95% = 1.67

H_0 : F_0 para el factor B < F_t al 0.95% = 1.67

H_a : F_0 para el factor B > F_t al 0.95% = 1.67

H_0 : F_0 para la combinación de los factores A2 y B < F_t al 0.95% = 1.67

H_a : F_0 para la combinación de los factores A2 y B > F_t al 0.95% = 1.67

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados del Experimento II

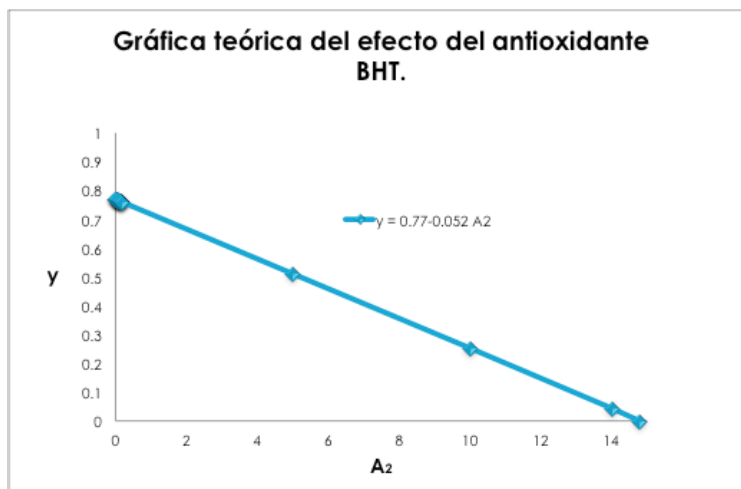
A2	B	Aspecto de la solución.												\hat{y}	Σy	Contraste	Efecto	Coeficiente	
		y ₁	y ₂	y ₃	y ₄	y ₅	y ₆	y ₇	y ₈	y ₉	y ₁₀	y ₁₁	y ₁₂						
-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0.92	11	-----	-----	-----
+	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0.75	9	-5	-0.104	-0.052	
-	+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0.83	10	-3	-0.063	-0.031	
+	+	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0.58	7	-1	-0.021	-0.010	
												$\bar{Y} =$	0.77						
												$\Sigma Y =$	37						

Factor	SS	gL	SS/gL	F0
----	----	----	----	---
a	0.521	1	0.521	2.957
b	0.188	1	0.188	1.065
ab	0.021	1	0.021	0.118
Residual	7.750	44	0.176	
Total	8.479	47		

La ecuación que describe el experimento es:
 $y = 0.77 - 0.052 A_2 - 0.032 B - 0.010 A_2 B$
 para un valor de Ft al 0.95%=1.67
 Solo el factor A₂ influye en el aspecto de la solución,
 por lo que la ecuación final es:
 $y = 0.77 - 0.052 A_2$

Tabla 25. Resultados del método de contrastes ortogonales Experimento II.

A2	y = 0.77 - 0.052 A2
0.005	0.769
0.02	0.769
0.03	0.768
0.04	0.768
0.05	0.767
0.06	0.767
0.07	0.766
0.08	0.766
0.09	0.765
0.10	0.765
0.50	0.744
1.0	0.718
2.0	0.666
4.0	0.562
6.0	0.458
8.0	0.354
10.0	0.250
14.0	0.042
14.8	0



Gráfica 2. Resultados teóricos de experimento II.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En base a los resultados obtenidos se concluye que:

Se acepta H_a para el factor A2, por lo que: la cantidad de BTH influye sobre el aspecto de la solución elaborada.

Se acepta H_0 para el Factor B, por lo que: el aspecto de la solución no depende del pH usado (5 y 7) en el experimento.

Se acepta H_0 para la interacción de los factores AB, por lo que: el aspecto de la formulación no se ve afectada por la combinación de ambos factores.

De tal forma que se obtiene la mejor formulación utilizando un rango de 5 a 7 de pH y utilizando como antioxidante a el butilhidroxitolueno (A2) a una concentración de 0.005%.

De acuerdo los resultados obtenidos se estableció la fórmula uno (F1):

ADITIVO	F1	Cantidad
Principio Activo	Ketoconazol	2%
Antioxidante	BHT	0.005%
Conservador	Clorobutanol	0.5%
Cosolvente	Alcohol isopropílico	1%
Vehículo	Propilenglicol	c.b.p. 100%

Tabla 26. Aditivos presentes en F1.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Con ayuda de estos resultados se planteó una nueva hipótesis, ya que a los 45 días en todas la formulaciones se observa una solución opalescente, muestra de inestabilidad física. Probablemente esto se deba a que la cantidad de alcohol isopropílico se evapora conforme pasa el tiempo; lo que provocaba que la concentración de los demás excipientes aumente y por tanto se precipite ligeramente la muestra. Otro factor probable es la solubilidad del principio activo en la solución, por lo que se plantea disminuir la tensión superficial entre las mezcla A y B utilizando un tensoactivo como el tween 80.

Experimento III:

Formulación	9	10	11	12
INGREDIENTES	Para 100 mL	Para 100 mL	Para 100 mL	Para 100 mL
Ketoconazol	2 g	2 g	2 g	2 g
Propilenglicol	70 ml	70 ml	70 ml	70 ml
Alcohol isopropílico	5 ml	5 ml	20 ml	20 ml
Clorobutanol	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g
BHT	0.005 g	0.005 g	0.005 g	0.005 g
Tw 80	-----	0.3 g	-----	0.3 g
Propilenglicol c.b.p.	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml

Tabla 27. Formulaciones del experimento III.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados del Experimento III:

Formulación	Rf	Rf	Observaciones	pH final de la solución	Aspecto de la Solución*
9	0.30	0.30	Se observan dos manchas una que corresponde al Rf del principio activo.	6.65	√CUMPLE
10	0.29	0.28		6.65	√CUMPLE
11	0.30	0.30		6.60	√CUMPLE
12	0.30	0.28		6.65	√CUMPLE
Control 1	0.30	0.30	Se utilizó como estándar una solución de ketoconazol al 2% en Cloroformo.		
Control 2	0.30	0.30			

Tabla 28. Resultados del experimento III.

*Solución transparente, libre de partículas extrañas.

Siguiendo el mismo criterio establecido en el experimento II se reportan en la siguiente tabla, el aspecto de la solución durante 90 días a temperatura ambiente:

Valor	Aspecto de la solución
1	Solución transparente, libre de partículas extrañas.
0	Solución opalescente o con indicios de precipitado.

Formulación	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 16	Día 24	Día 32	Día 40	Día 48	Día 56	Día 60	Día 90
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tabla 29. Observaciones del aspecto de la solución en el experimento III.

Como no se observó cambios en las formulaciones a temperatura ambiente, se prepararon los lotes respectivos, para someter estas fórmulas a la prueba de ciclado térmico con los distintos envases establecidos en el capítulo 2.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

3. PRUEBA DE CICLADO TÉRMICO

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en tiempo inicial (T0).

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución	Volumen (mL)	pH 5.0 - 7.0		Observaciones
L1	9	TA	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	TA	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	TA	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	TA	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
L2	9	TA	✓ CUMPLE	20	6.64	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	TA	✓ CUMPLE	20	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	TA	✓ CUMPLE	20	6.63	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	TA	✓ CUMPLE	20	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
L3	9	TA	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	TA	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	TA	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	TA	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable

Tabla 30. Prueba de ciclado térmico T0.

- L1) Envase cilíndrico de polietileno de alta densidad color blanco base plana, translucido, con gotero y tapa; y capacidad de 15 mL.
- L2) Envase cilíndrico de vidrio color ámbar, base plana, termoresistente, con gotero de polietileno de alta densidad, dosificador de vidrio transparente y capacidad de 20 mL.
- L3) Envase cilíndrico de polietileno de baja densidad, ligeramente opaco de base plana con gotero y tapa; y capacidad de 15 mL.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 1er día.

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución	Volumen (mL)	pH		Observaciones
					5.0 - 7.0		
L1	9	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero al pasar aprox. 5 min a temp. ambiente (18°C) se observa una solución transparente.
	11	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero al pasar aprox. 5 min a temp. ambiente (18°C) se observa una solución transparente
L2	9	-4°C	√ CUMPLE	20	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	√ CUMPLE	20	6.65	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero al pasar aprox. 5 min a temp. ambiente (18°C) se observa una solución transparente
	11	-4°C	√ CUMPLE	20	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	√ CUMPLE	20	6.65	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero al pasar aprox. 5 min a temp. ambiente (18°C) se observa una solución transparente.
L3	9	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero al pasar aprox. 5 min a temp. ambiente (18°C) se observa una solución transparente
	11	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero al pasar aprox. 5 min a temp. ambiente (18°C) se observa una solución transparente

Tabla 31. Prueba de ciclado térmico T1

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 2do. día.

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución.	Volumen (mL)	pH 5.0-7.0		Observaciones
L1	9	40°C	√ CUMPLE	15	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	40°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	40°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
L2	9	40°C	√ CUMPLE	20	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	40°C	√ CUMPLE	20	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	40°C	√ CUMPLE	20	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	√ CUMPLE	20	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
L3	9	40°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	40°C	√ CUMPLE	15	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	40°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable

Tabla 32. Prueba de ciclado térmico T2

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 3er día:

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución	Volumen (mL)	pH 5.0 - 7.0		Observaciones
L1	9	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.55	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (20°C) se observa transparente
	11	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (20°C) se observa transparente
L2	9	-4°C	✓ CUMPLE	20	6.55	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	✓ CUMPLE	20	6.50	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (20°C) se observa transparente
	11	-4°C	✓ CUMPLE	20	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	✓ CUMPLE	20	6.60	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (20°C) se observa transparente.
L3	9	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.65	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (20°C) se observa transparente
	11	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.55	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (20°C) se observa transparente

Tabla 33. Prueba de ciclado térmico T3

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 4to día:

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución.	Volumen (mL)	pH		Observaciones
					5.0 - 7.0		
L1	9	40°C	√ CUMPLE	15	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	40°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	40°C	√ CUMPLE	15	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	√ CUMPLE	15	6.65	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
L2	9	40°C	√ CUMPLE	20	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	40°C	√ CUMPLE	20	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	40°C	√ CUMPLE	20	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	√ CUMPLE	20	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
L3	9	40°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	40°C	√ CUMPLE	15	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	11	40°C	√ CUMPLE	15	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	√ CUMPLE	15	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable

Tabla 34. Prueba de ciclado térmico T4

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 5to día:

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución.	Volumen (mL)	pH 5.0 - 7.0		Observaciones
L1	9	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.55	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	NO CUMPLE	15	6.30	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (17°C) se observa una solución transparente, con una ligera coloración rosa
	11	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	NO CUMPLE	15	6.20	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (17°C) se observa transparente de color rosa
L2	9	-4°C	✓ CUMPLE	20	6.55	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	NO CUMPLE	20	6.20	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (17°C) se observa transparente con una ligera coloración rosa.
	11	-4°C	✓ CUMPLE	20	6.60	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	NO CUMPLE	20	6.30	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (17°C) se observa una solución transparente, con una ligera coloración rosa.
L3	9	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.55	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	10	-4°C	NO CUMPLE	15	6.20	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (17°C) se observa transparente, con una ligera coloración rosa.
	11	-4°C	✓ CUMPLE	15	6.50	✓ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	-4°C	NO CUMPLE	15	6.25	✓ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (17°C) se observa transparente, con una ligera coloración rosa

Tabla 35. Prueba de ciclado térmico T5.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 6to día:

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución	Volumen (mL)	pH 5.0 - 7.0		Observaciones
L1	9	40°C	NO CUMPLE	15	6.70	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
	10	40°C	NO CUMPLE	15	6.20	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
	11	40°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	NO CUMPLE	15	6.25	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
L2	9	40°C	NO CUMPLE	20	6.35	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
	10	40°C	NO CUMPLE	20	6.45	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
	11	40°C	NO CUMPLE	20	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	NO CUMPLE	20	6.45	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
L3	9	40°C	NO CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
	10	40°C	NO CUMPLE	15	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa
	11	40°C	NO CUMPLE	15	6.60	√ CUMPLE	Se observa una solución estable
	12	40°C	NO CUMPLE	15	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa

Tabla 36. Prueba de ciclado térmico T6.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Resultados en la prueba de ciclado térmico, en 7mo día:

Envase	Formulación	Condición	Aspecto de la solución	Volumen (mL)	pH 5.0 - 7.0		Observaciones
L1	9	-4°C	NO CUMPLE	15	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa.
	10	-4°C	NO CUMPLE	15	6.45	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia a temp. ambiente (19.5°C) se observa transparente de color rosa.
	11	-4°C	√ CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución estable.
	12	-4°C	NO CUMPLE	15	6.40	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (19.5°C) se observa transparente de color rosa.
L2	9	-4°C	NO CUMPLE	20	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa.
	10	-4°C	NO CUMPLE	20	6.40	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (19.5°C) se observa transparente, de color rosa.
	11	-4°C	NO CUMPLE	20	6.40	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa.
	12	-4°C	NO CUMPLE	20	6.50	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (19.5°C) se observa transparente de color rosa.
L3	9	-4°C	NO CUMPLE	15	6.50	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa.
	10	-4°C	NO CUMPLE	15	6.45	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (19.5°C) se observa transparente de color rosa.
	11	-4°C	NO CUMPLE	15	6.55	√ CUMPLE	Se observa una solución transparente rosa.
	12	-4°C	NO CUMPLE	15	6.35	√ CUMPLE	Al principio se observa la solución turbia pero a temp. ambiente (19.5°C) se observa transparente de color rosa.

Tabla 37. Prueba de ciclado térmico T7.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Al someter una formulación a distintas condiciones de temperatura está tiende degradarse más rápido, por lo que en la prueba de ciclado térmico se busca acelerar la degradación de las formulas y exponer la inestabilidad que pudiese ocurrir hasta que es utilizada por el paciente.

En base a los resultados anteriores se eligió la formulación 11 con el envase L1 (envase cilíndrico de vidrio de base plana, de color ámbar, termoresistente, con gotero de Polietileno de alta densidad y dosificador de vidrio transparente, con capacidad de 20 mL), el cual permaneció estable durante toda la prueba, por lo que se considera la mejor formulación.

Finalmente la fórmula escogida es:

INGREDIENTES	Para 100 mL
Ketoconazol	2 g
Propilenglicol	70 ml
Alcohol isopropílico	20 ml
Clorobutanol	0.5 g
BHT	0.005 g
Propilenglicol c.b.p.	100 ml

Tabla 38. Fórmula final.

El pH final de las formulaciones elaboradas en el experimento III al tiempo inicial T0 varían de 6.50 a 6.65; por tal motivo podemos acotar el rango de pH y establecer que en esta nueva fórmula, el pH final de la formulación elaborada sea de 6 a 7.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

4. EVALUACIÓN IN VITRO

4.1 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN EN DISCO

En los siguientes resultados se marca con "A" a las muestras pertenecen a las cepas de *A. flavus*, y con "C" a los tubos tratados con la cepa *C. albicans*; así como D1 significa la primera dilución, D2 la segunda dilución y D3 la tercera dilución.

Muestra	Crecimiento del microorganismo en disco del Blanco de la Muestra	Crecimiento del microorganismo en disco de la muestra	Diámetro de inhibición (mm)	Inhibición
D1A	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
D2A	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	38	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	38	√ CUMPLE
	+	-	38	√ CUMPLE
D3A	+	-	38	√ CUMPLE
	+	-	38	√ CUMPLE
	+	-	39	√ CUMPLE
	+	-	40	√ CUMPLE
	+	-	40	√ CUMPLE
	+	-	39	√ CUMPLE
Control positivo	En el control positivo del medio hubo crecimiento.			
Control negativo del medio	En el control negativo del medio no hubo crecimiento.			

Tabla 39. Resultados de la prueba de sensibilidad por difusión con discos de *A. flavus*.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Muestra	Crecimiento del microorganismo en disco del Blanco de la Muestra	Crecimiento del microorganismo en disco de la muestra	Diámetro de inhibición (mm)	Inhibición
D1C	+	-	34	√ CUMPLE
	+	-	34	√ CUMPLE
	+	-	35	√ CUMPLE
	+	-	35	√ CUMPLE
	+	-	34	√ CUMPLE
	+	-	35	√ CUMPLE
D2C	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	36	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
D3C	+	-	38	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	37	√ CUMPLE
	+	-	38	√ CUMPLE
	+	-	38	√ CUMPLE
Control positivo	En el control positivo del medio hubo crecimiento.			
Controles negativo del medio	En los controles negativo del medio no hubo crecimiento.			

Tabla 40. Resultados de la prueba de sensibilidad por difusión con discos de *C. albicans*.

Se estableció al principio del experimento, que un halo de inhibición positivo sería cuando fuera mayor de 15 mm de diámetro. Este hecho fue superado ya que los halos obtenidos en las placas para *A. flavus* fueron de 36 a 40 mm y para *C. albicans* de 34 a 38 mm, esto indica que la solución ótica inhibe a los dos principales agentes causales de la otomicosis.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

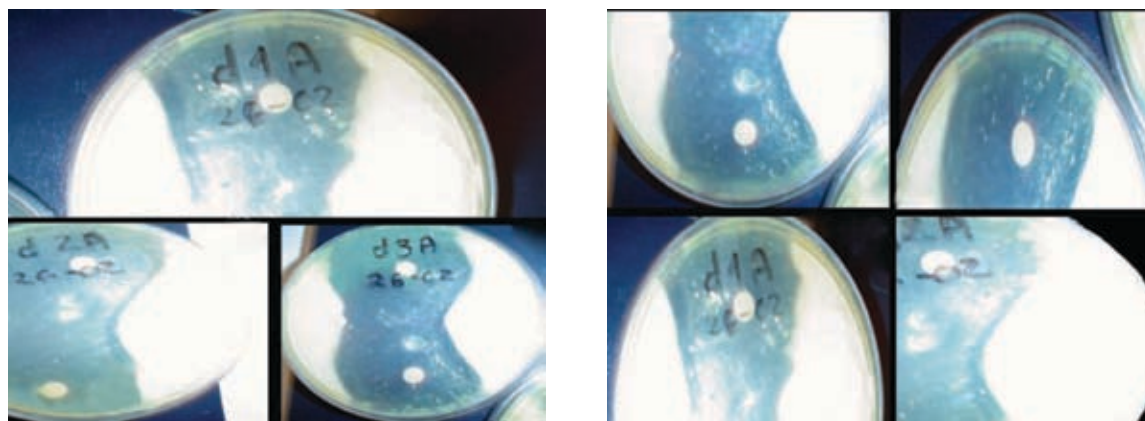


Imagen 3. Fotos de la inhibición de *A. flavus* provocada por la solución ótica elaborada así como el crecimiento en los discos impregnados con los blancos de la solución.

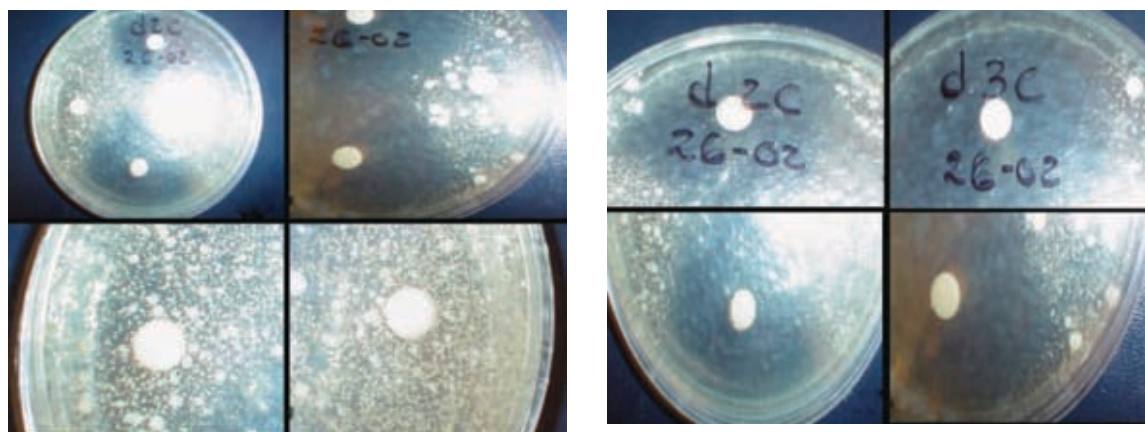


Imagen 4. Fotos de la inhibición de *C. albicans* provocada por la solución ótica elaborada, así como el crecimiento presente en los discos impregnados con el blanco de la solución.

En estas imágenes al leer la caja Petri conforme a las manecillas del reloj, a las 12:00 hrs y a las 6:00 hrs. Se aprecia la inhibición de los microorganismos por el agente antimicótico presente en los discos impregnados con solución ótica. Así mismo se observa, a las 3:00 hrs y las 9:00 hrs, el crecimiento de los microorganismos sobre los discos con los blancos de la muestra (la solución ótica sin el principio activo); comprobándose que no existe ningún efecto antimicótico de los excipientes establecidos en la formulación.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.2 PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR DILUCIÓN EN CALDO

En los siguientes resultados se marca con "A" a las muestras que pertenecen a las cepas de *A. flavus* y con "C" a los tubos tratados con la cepa *C. albicans*.

En este estudio se obtuvo los siguientes cuadros de resultados:

Muestra	Adición de la cepa de <i>A. flavus</i>	Adición del blanco de la solución óptica	Adición de la solución óptica	Crecimiento en tubos			Crecimiento de las muestras resembradas		
Blanco Positivo (BAP)	NA	NA	NA	+	+	+	++++	++++	++++
Blanco A dilución 1	1 mL de cepa patrón	0.25 mL	NA	+	+	+	++++	++++	++++
Blanco A dilución 2	1 mL de d1	0.25 mL	NA	+	+	+	++++	++++	++++
Blanco A dilución 3	1 mL de d2	0.25 mL	NA	+	+	+	++++	++++	++++
Muestra A dilución 1	1 mL de cepa patrón	NA	0.25 mL	-	-	-	-	-	-
Muestra A dilución 2	1 mL de d1	NA	0.25 mL	-	-	-	-	-	-
Muestra A dilución 3	1 mL de d2	NA	0.25 mL	-	-	-	-	-	-
Blancos de medio A (BA)	NA	NA	NA	-			-		

Tabla 41. Resultados de la prueba de sensibilidad por dilución en caldo de *A. flavus*.

NA = no aplica

RESULTADOS Y ANÁLISIS

Muestra	Adición de la cepa de <i>C. albicans</i>	Adición del blanco de la solución óptica	Adición de la solución óptica	Crecimiento en tubos			Crecimiento de las muestras resiembra		
Blanco Positivo (BCP)	NA	NA	NA	+	+	+	++++	++++	++++
Blanco C dilución 1	1 mL de cepa patrón	0.25 mL	NA	+	+	+	++	++	++
Blanco C dilución 2	1 mL de d1	0.25 mL	NA	+	+	+	++	++	++
Blanco C dilución 3	1 mL de d2	0.25 mL	NA	+	+	+	++	++	++
Muestra C dilución 1	1 mL de cepa patrón	NA	0.25 mL	-	-	-	+	+	+
Muestra C dilución 2	1 mL de d1	NA	0.25 mL	-	-	-	-	-	-
Muestra C dilución 3	1 mL de d2	NA	0.25 mL	-	-	-	-	-	-
Blanco de medio (BC)	NA	NA	NA	-	-	-	-	-	-

Tabla 42. Resultados de la prueba de sensibilidad por dilución en caldo de *C. albicans*.

NA = no aplica

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En cada imagen el acomodo de las cajas Petri fue:

-En la parte superior izquierda: el control positivo correspondiente a la cepa analizada.

- En la parte superior derecha: el control negativo del medio de cultivo.

- En la parte inferior, de izquierda a derecha se colocaron la dilución 1, dilución 2 y dilución 3, correspondiente al microorganismo analizado.

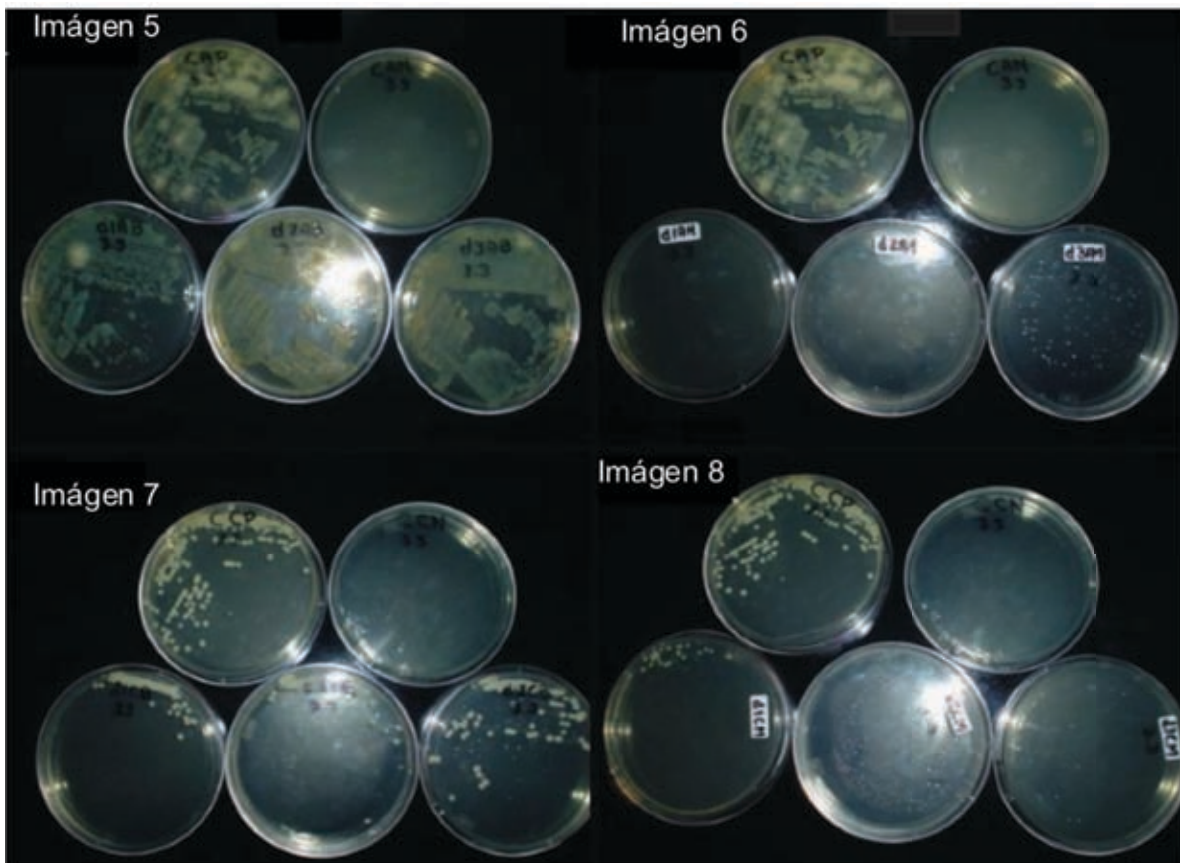


Imagen 5 . Resiembras realizadas con el blanco de la solución ótica y la cepa de *A.flavus*.

Imagen 6. Resiembras realizadas con la solución ótica y la cepa de *A.flavus*.

Imagen 7. Resiembras realizadas con el blanco de la solución ótica y la cepa de *C. albicans*.

Imagen 8. Resiembras realizadas con la solución ótica y la cepa de *C.albicans*

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En las muestras donde se inoculó *A. flavus* y se adicionó el blanco de la solución óptica, hubo crecimiento hasta la cuarta cruz de crecimiento, por lo que no hubo inhibición del microorganismo.

En las cajas Petri inoculadas con *A. flavus* y solución óptica, no hubo crecimiento en ninguna de las diluciones, lo que demuestra la efectividad de la solución óptica realizada ante *A. flavus*.

Las muestras inoculada con *C. albicans* y con el blanco de la solución óptica, hubo crecimiento en las 3 diluciones hasta la segunda cruz de crecimiento, lo que indica que no hubo inhibición del microorganismo; corroborando así que los excipientes en la solución óptica no tiene efecto antimicótico.

Finalmente en las muestras donde fue inoculada la cepa de *C. albicans* y se adicionó la solución óptica realizada, se observa crecimiento en la primera y segunda dilución; obteniéndose de 21-25 UFC y 7-9 UFC respectivamente. Esto indica que no fue suficiente la cantidad de la solución óptica adicionada, específicamente para la especie de *C. albicans*.

Capítulo 4

CONCLUSIONES

A partir de los resultados anteriores se concluye que:

Se desarrolló una fórmula farmacéutica de administración ótica con ketoconazol la cual es una fórmula preliminar en el tratamiento de la otomicosis, utilizando como herramientas el diseño y el análisis de experimentos.

En el diseño de experimentos realizado, se determinó que la mejor formulación es utilizando el butilhidroxitolueno (BHT) como antioxidante a una concentración de 0.05% utilizando pH de 5 y 7.

Al realizar los estudios de preformulación del principio activo ketoconazol, este cumplió con las pruebas reportadas de caracterización: descripción, punto de fusión y solubilidad.

En base a los resultados de los estudios de estabilidad del principio activo y la compatibilidad con los excipientes, se recomienda: acondicionar en un material de envase y empaque cerrados, protegido de la luz y a temperatura ambiente. De acuerdo a estos estudios, el ketoconazol es compatible con alcohol isopropílico, propilenglicol, tween 60, tween 80, glicerina, parafina líquida, metabisulfito de sodio y clorobutanol.

Con la finalidad de evitar la hidrólisis ácida y degradación del ketoconazol, el pH de la formulación o vehículo se recomienda que sea 5.0 antes de comenzar con la disolución.

Para la elaboración de la solución ótica, el principio activo debe disolverse en propilenglicol por 30 minutos mediante agitación constante a una velocidad media.

Al finalizar las pruebas de ciclado térmico se obtuvo una solución estable, transparente y libre de partículas extrañas; utilizando una concentración de alcohol isopropílico al 20%. Se observó que la formulación bajo condiciones ambientales permanece estable por más de 90 días.

Así mismo se estableció que la mejor condición de almacenamiento es un envase cilíndrico de vidrio color ámbar, base plana, termoresistente, con gotero de polietileno de alta densidad, dosificador de vidrio transparente y capacidad de 20 mL.

La solución ótica fue sometida a dos ensayos de susceptibilidad antimicótica *in vitro*: prueba de difusión con discos y sensibilidad por dilución en caldo contra los dos agentes causales más comunes de la otomicosis: *A. flavus* y *C. albicans*; encontrándose que la solución presenta un efecto antimicótico para ambas cepas.

Se escribió el procedimiento normalizado de operaciones (PNO) donde se indica la metodología para llevar a cabo la solución ótica así como las especificaciones del producto terminado.

Recomendaciones:

En este proyecto de tesis se desarrolló la primer formulación ótica para la otomicosis, por lo que propongo realizar en futuras investigaciones los estudios de estabilidad a largo plazo, empleando como referencia la norma oficial mexicana NOM-O73-SSA1-1993 de Estabilidad de fármacos y medicamentos; y llevar a cabo pruebas *in vivo* con animales para observar si la solución ótica desarrollada no presenta irritabilidad dérmica primaria como reacción adversa al medicamento.

Patel y colaboradores ha reportado que Capmul MCM NF (Caprilato de glicerina) y el aceite de sésamo poseen mayor solubilidad que el propilenglicol, por lo que se sugiere evaluar una posible reformulación con estos dos disolventes con el fin mejorar la estabilidad de la fórmula.⁵⁶

ANEXOS


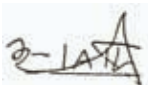
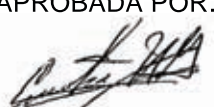
Anexo 1

Procedimiento Normalizado de Operación (PNO)



FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA															
			PNO No. <u>01</u>	Pág. <u>1/7</u>														
ESCRITA POR: Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR: I.Q. Adán López González.	APROBADA POR: M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>															
			SUBSTITUYE A: NUEVO															
<p>TAMAÑO ESTÁNDAR DEL LOTE:</p> <p>100.0 ml de solución para aproximadamente 100 frascos</p> <p>DESCRIPCIÓN:</p> <p>Solución transparente libre de partículas extrañas</p> <p>FORMULACIÓN:</p> <table border="1" data-bbox="509 1264 1109 1522"> <thead> <tr> <th>INGREDIENTES</th> <th>Para 100 mL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ketoconazol</td> <td>2 g</td> </tr> <tr> <td>Propilenglicol</td> <td>70 ml</td> </tr> <tr> <td>Alcohol isopropílico</td> <td>20 ml</td> </tr> <tr> <td>Clorobutanol</td> <td>0.5 g</td> </tr> <tr> <td>BHT</td> <td>0.005 g</td> </tr> <tr> <td>Propilenglicol c.b.p.</td> <td>100 ml</td> </tr> </tbody> </table>					INGREDIENTES	Para 100 mL	Ketoconazol	2 g	Propilenglicol	70 ml	Alcohol isopropílico	20 ml	Clorobutanol	0.5 g	BHT	0.005 g	Propilenglicol c.b.p.	100 ml
INGREDIENTES	Para 100 mL																	
Ketoconazol	2 g																	
Propilenglicol	70 ml																	
Alcohol isopropílico	20 ml																	
Clorobutanol	0.5 g																	
BHT	0.005 g																	
Propilenglicol c.b.p.	100 ml																	



FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA	
			PNO No. <u>01</u>	Pág. <u>2/7</u>
ESCRITA POR:  Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR:  I.Q. Adán López González.	APROBADA POR:  M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>	
			SUBSTITUYE A: <p style="text-align: center;">NUEVO</p>	
<p>MATERIAL Y EQUIPO</p> <p>MATERIAL:</p> <ul style="list-style-type: none"> -1 Vaso de precipitado de vidrio de 200 ml. -1 Vaso de precipitado de vidrio de 50 ml. -1 Probeta graduada de vidrio de 100 ml. -1 Probeta graduada de vidrio de 50 ml. -1 Espátula de acero inoxidable. -1 Agitador de vidrio. -1 Agitador magnético. -1 Termómetro. -10 frascos de plástico o vidrio ámbar de 10 ml. 				


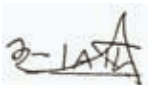
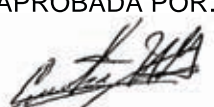


FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA	
			PNO No. <u>01</u>	Pág. <u>3/7</u>
ESCRITA POR: Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR: I.Q. Adán López González.	APROBADA POR: M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>	
			SUBSTITUYE A: NUEVO	
<p>EQUIPO:</p> <ul style="list-style-type: none"> -1 Balanza analítica. -1 Parrilla con agitador magnético. -1 Potenciómetro <p>SEGURIDAD:</p> <p>El personal involucrado en la manufactura y control de la solución Ótica Antimicótica debe portar bata blanca, limpia en buen estado, cerrada (abotonada), cofia, cubre bocas y guantes de cirujano en buen estado. No debe de portar ningún tipo de joyería o maquillaje.</p> <p>El personal que opere los equipos requeridos en este proceso deberá observar cuidadosamente las instrucciones de uso, limpieza y seguridad</p>				



FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA	
			PNO No. <u>01</u>	Pág. <u>4/7</u>
ESCRITA POR: Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR: I.Q. Adán López González.	APROBADA POR: M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>	
			SUBSTITUYE A: NUEVO	
<p>PROCEDIMIENTO:</p> <p>*PESADO Y SURTIDO DE MATERIAS PRIMAS:</p> <p>Verificar el orden y la limpieza del cuarto de pesado.</p> <p>Verificar la identidad de cada uno de los contenedores de las materias primas por pesar.</p> <p>Verificar que las materias primas requeridas estén aprobadas.</p> <p>Pesar las materias primas por separado utilizando una espátula por cada materia y una bolsa limpia previamente identificada con la materia prima a pesar.</p> <p>Verificar el pesado de cada una de las materias primas requeridas.</p> <p>Trasladar las materias primas al cubículo de manufactura asignadas.</p> <p>Verificar el orden y limpieza del cuarto de pesado una vez que ha terminado el proceso de pesado y surtido.</p>				



FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA	
			PNO No. <u>01</u>	Pág. <u>5/7</u>
ESCRITA POR:  Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR:  I.Q. Adán López González.	APROBADA POR:  M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>	
			SUBSTITUYE A: NUEVO	
<p>*MANUFACTURA:</p> <p>Verificar el orden y limpieza del cubículo de manufactura asignada.</p> <p>Identificar el cubículo de manufactura asignada.</p> <p>Verificar las materias primas surtidas contra la orden de producción.</p> <p>PROCESO:</p> <p>Verificar que el pH del propilenglicol se encuentre de 5 a 7, ajustando de ser necesario con HCl 0.01N ó NaOH 0.01N.</p> <p>En el vaso de precipitado de 200 ml verter 70ml de Propilenglicol y el agitador magnético; colocarlo en la parrilla magnética y mantener una temperatura menor a 45°C con una agitación constante.</p> <p>Adicionar poco a poco el ketoconazol esperando en cada adición la disolución completa del ketoconazol, seguir agregando la materia prima hasta la incorporación completa.</p>				


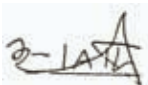
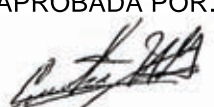


FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA	
			PNO No. <u>01</u>	Pág. 6/7
ESCRITA POR: Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR: I.Q. Adán López González.	APROBADA POR: M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>	
			SUBSTITUYE A: NUEVO	
<p>Una vez disuelto el ketoconazol en propilenglicol, disminuir la temperatura a temperatura ambiente, sin dejar de agitar.</p> <p>En el vaso de precipitado de 50 ml verter el isopropanol, adicionar el clorobutanol y mezclarlos con el agitador de vidrio; posteriormente a la mezcla adicionarle el BHT, seguir agitando hasta la incorporación completa de estos excipientes.</p> <p>Verter la solución con isopropanol, clorobutanol y BHT a la solución con ketoconazol y propilenglicol.</p> <p>Una vez incorporadas ambas mezclas adicionar el propilenglicol necesario para completar los 100 ml y mezclarlos.</p> <p>Finalmente verter la solución ótica en los envases de 20mL y etiquetarlos con su respectivo lote y fecha de elaboración.</p>				



Laboratorio de
**Tecnología
Farmacéutica**



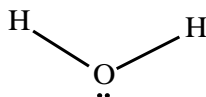
FABRICACIÓN DE UNA SOLUCIÓN ÓTICA CON KETOCONAZOL			PNO DE MANUFACTURA	
			PNO No. <u>01</u>	Pág. <u>7/7</u>
ESCRITA POR:  Q.F.B. Esmeralda Flores González	REVISADA POR:  I.Q. Adán López González.	APROBADA POR:  M. en F. Ernestina Hernández García.	EN VIGOR: <u>2014</u>	
			SUBSTITUYE A: NUEVO	
ESPECIFICACIONES Solución transparente con aspecto oleoso libre de partículas extrañas sin burbujas con un pH de 5–7 Con una densidad entre 1.0300 –1.0431 y una viscosidad de 53 –59 cps				

Anexo 2

Excipientes

Agua

Fórmula Química:



Descripción: es un líquido incoloro, inodoro e insípido.

Solubilidad: el agua es el disolvente universal, por lo que no existen parámetros de solubilidad para evaluarla.

Usos: disolvente y vehículo ampliamente utilizado en la industria.

Método de Fabricación: el agua es un producto no renovable que puede ser potabilizado, purificado y/o esterilizado por diversos métodos como destilación, desionización y osmosis inversa.

Estabilidad: el agua es químicamente estable en todos sus estados físicos.

Incompatibilidades: en formulaciones farmacéuticas el agua puede reaccionar con fármacos o excipientes que tienen susceptibilidad a hidrólisis.

Precauciones: no hay especificaciones.

Alcohol cetílico

Fórmula Química:

Descripción: hojuelas de color blanco, granuladas, cúbicas o con apariencia amorfa, con olor característico y aspecto blando ceroso.

Solubilidad: es insoluble en agua y soluble en: alcohol, acetona, benceno, cloroformo y éter. Miscible cuando se disuelve con aceites líquidos y sólidos como la parafina y el miristato de isopropilo.

Usos: agente emulsificante, surfactante, cosolvente y emoliente.

Método de Fabricación: el alcohol cetílico puede ser manufacturado por un sin número de métodos como la esterificación e hidrólisis de ácidos grasos o por catálisis ácida de triglicéridos obtenidos a partir del aceite y sebo del coco. Puede purificarse por cristalización y destilación.

Estabilidad: estable en presencia de ácidos, bases, o bien en condiciones luz y aire, sin embargo se recomienda utilizar envases bien cerrados.

Incompatibilidades: no existe información de alguna incompatibilidad.

Precauciones: no hay especificaciones de restricción.

Alcohol estearílico

Fórmula Química:

Descripción: es de color blanco, ceroso en forma de hojuelas o gránulos con un olor característico y textura blanda.

Solubilidad: es soluble en: acetona, benceno, alcohol isopropílico, aceite mineral y tricloro etileno; es miscible en ciclohexano, etanol, etil-éter y metanol. Es insoluble en agua.

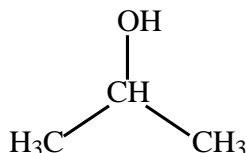
Usos: en formas farmacéuticas semisólidas es utilizado en ungüentos y cremas para incrementar la viscosidad y la estabilidad física. También es utilizado para incrementar la capacidad emulsificante de sistemas complejos, formando parte de la fase oleosa.

Método de Fabricación: históricamente se preparaba a partir del aceite del esperma de ballena sin embargo, en la actualidad se prepara sintéticamente por la reducción del etil-estearato con hidruro de Aluminio-Litio.

Estabilidad: es estable en medios ácidos y alcalinos; usualmente no se ramifica pero debe de preservarse en contenedores bien cerrados.

Incompatibilidades: no existe información.

Precauciones: no hay restricciones de uso.

Alcohol Isopropílico (2-propanol)**Fórmula Química:**

Descripción: líquido transparente, no colorido, volátil e inflamable, con un olor característico.

Solubilidad: miscible en agua, etanol, benceno, cloroformo, éter y glicerina, insoluble en soluciones salinas y soluble en acetona.

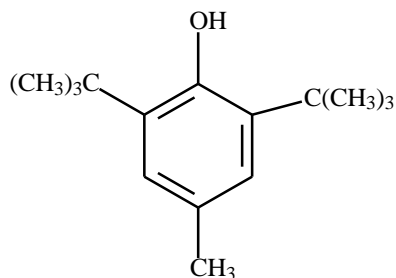
Usos: es un disolvente USP, útil como desinfectante local.

Método de Fabricación: se puede preparar por tres métodos como la reacción de hidrólisis del propileno en ácido sulfúrico, por la reducción catalítica por la acetona y por fermentaciones de carbohidratos.

Estabilidad: debe almacenarse en contenedores bien cerrados, lejos del calor y protegidos de la luz.

Incompatibilidades: los agentes antioxidantes como peróxido de hidrógeno y ácido nítrico descomponen al alcohol isopropílico. Puede ser saturado en mezclas acuosas por la adición de cloruro de sodio, sulfato de sodio u otra sal de hidróxido de sodio.

Precauciones: proteja del calor.

Butilhidroxitolueno (BHT)**Fórmula Química:**

Descripción: se encuentra en forma de cristales blancos o ligeramente amarillos e insípidos, con olor suave característico.

Solubilidad: prácticamente insoluble en agua, glicerina y propilenglicol. Frecuentemente soluble en acetona, benceno, etanol, éter, metanol, tolueno y parafina líquida.

Usos: es utilizado como un antioxidante de fases oleosas de productos farmacéuticos y cosméticos.

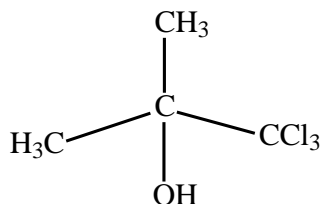
Método de Fabricación: se prepara al hacer reaccionar al p-cresol con el 2-metilpropeno.

Estabilidad: al exponerlo a la luz y el calor se decolora y disminuye su actividad. Es recomendable almacenar en un recipiente cerrado, protegido de la luz y en un lugar fresco.

Incompatibilidades: es incompatible con fenoles y agentes oxidantes como el peróxido y permanganato.

Precauciones: puede ser irritante a los ojos e inhalación.

Clorobutanol

Fórmula Química:

Descripción: se encuentra en forma de cristales incoloros a blancos, con sabor y olor al alcanfor.

Solubilidad: es poco soluble en agua, soluble en cloroformo, éter y aceites volátiles, muy soluble en alcohol y glicerina

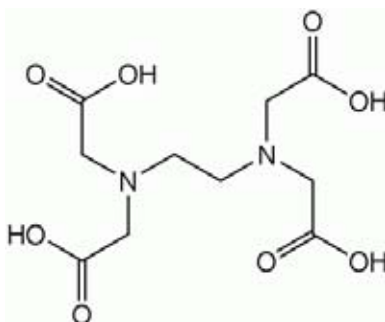
Usos: se utiliza como un conservador y se ha llegado a utilizar como un anestésico local.

Método de Fabricación: se prepara mediante la adición química de acetona al cloroformo, utilizando al hidróxido de potasio como agente catalítico.

Estabilidad: se recomienda utilizar pH ácidos ya que el clorobutanol sufre hidrólisis básica.

Incompatibilidades: no existe información bibliográfica.

Precauciones: se recomienda manejar temperaturas menores de 76°C, ya que se funde en su forma hidratada, y menores de 95°C en forma anhidra.

Ácido dietilendiamino tetra acético (EDTA)**Fórmula Química:**

Descripción: líquido claro, incoloro o solo ligeramente amarillo de olor amoniacal.

Solubilidad: es miscible con agua y alcohol.

Usos: se utiliza como un antioxidante, además se utiliza para la inyección de aminofilina.

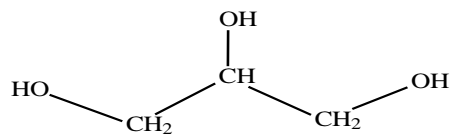
Método de Fabricación: se prepara haciendo reaccionar el dicloruro de etileno con amoniaco, añadiendo luego hidróxido de sodio y destilando la solución.

Estabilidad: en forma alcalina puede absorber con facilidad dióxido de carbono del aire para formar un carbonato volátil, por lo que es necesario proteger de la exposición indebida a la atmósfera. Siendo una base fuerte se combina fácilmente con ácidos para formar sales más estables.

Incompatibilidades: cuidar su reacción fuertemente alcalina.

Precauciones: manipular con cuidado debido a su naturaleza cáustica y a las propiedades irritantes de sus vapores.

Glicerina

Fórmula Química:

Descripción: es un líquido incoloro transparente inodoro viscoso, higroscópico con un sabor dulce.

Solubilidad: es ligeramente soluble en acetona, miscible en etanol, metanol y agua, e insoluble en benceno, cloroformo y aceite.

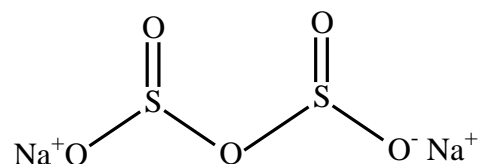
Usos: se utiliza como preservativo antimicrobiano, emoliente, humectante, agente endulzante, agente viscosante y ampliamente utilizado como solvente.

Método de Fabricación: se obtienen principalmente de aceite y grasas, productos de manufactura de jabones y ácidos grasos. Los cuales son obtenidos de forma natural de fermentaciones de azúcares, carne y melaza en presencia del sulfito de sodio. Sintéticamente la glicerina se puede preparar por la cloración y saponificación de propileno.

Estabilidad: es higroscópica, en forma pura no es propensa a la oxidación pero se descompone al calentarla. Las mezclas de glicerina con agua, etanol y propilenglicol son químicamente estables. Se recomienda almacenar en envases cerrados en un lugar fresco.

Incompatibilidades: puede explotar si se mezcla con un agente altamente oxidante, como el tritóxido de cromo o permanganato de potasio.

Precauciones: agente explosivo con agentes oxidantes.

Metabisulfito de sodio (MBS)**Fórmula Química:**

Descripción: se encuentra en forma de prismas cristalinos incoloros o ligeramente color crema, tiene un olor a anhídrido sulfuroso.

Solubilidad: ligeramente soluble en etanol, soluble en glicerina y muy soluble en agua.

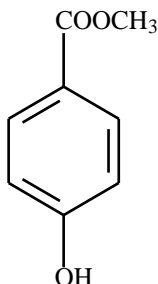
Usos: es utilizado como antioxidante en distintas formulaciones de tipo oral, parenteral y tópicas. Primordialmente es usado en preparaciones ácidas.

Método de Fabricación: es preparado al reaccionar la solución saturada de hidróxido de sodio con dióxido de azufre, haciendo pasar a la solución hidrógeno en ausencia de aire lo cual forma los cristales. También se puede preparar con una solución saturada de carbonato de sodio con dióxido de azufre, o bien por la deshidratación térmica del bisulfito de sodio.

Estabilidad: en exposición al aire y humedad es lentamente oxidado a sulfato de sodio con desintegración de los cristales. Al adicionar al metabisulfito un ácido fuerte se libera dióxido de azufre. En agua el metabisulfito de sodio es inmediatamente convertido a sodio (Na⁺) y bisulfito (HSO₃⁻) y en soluciones acuosas el metabisulfito puede descomponerse al contacto con el aire. Sin embargo, la adición de dextrosa a las soluciones acuosas incrementa la estabilidad del metabisulfito. Es recomendable utilizar envases bien cerrados protegido de la luz y en un lugar fresco.

Incompatibilidades: reacciona con simpaticomiméticos y otros fármacos como los alcoholes orto y para-hidroxibencil y derivados del ácido sulfónico disminuyendo la actividad farmacológica. Es importante mencionar que inactiva a la adrenalina y sus derivados.

Precauciones: puede ser irritante para la piel y ojos.

Metilparabeno**Fórmula Química:**

Descripción: polvo color blanco casi inodoro con un sabor ligeramente picante.

Solubilidad: muy soluble en agua, glicerina, aceite de cacahuate, soluble en metanol, polietilenglicol y éter

Usos: se utiliza esencialmente como un conservador.

Método de Fabricación: es preparado por la esterificación del ácido p-hidroxibenzoico con metanol.

Estabilidad: almacenarse en envases bien cerrados. En soluciones acuosas se recomienda utilizar pH ácidos de 3-6 ya que a mayor pH se tiende a descomponerse.

Incompatibilidades: puede reducirse en presencia de surfactantes no iónicos como el Tween 80, en soluciones con propilenglicol al 30% se reduce su absorción.

Precauciones: no hay reportadas.

Parafina líquida

Es una mezcla líquida refinada de hidrocarburos esencialmente parafinas y naftenos en su forma natural, obtenidos a partir del petróleo. Puede contener un estabilizante.

Descripción: líquido viscoso transparente, incoloro prácticamente inodoro en frío.

Solubilidad: insoluble en agua, glicerina y alcohol; soluble en benceno, cloroformo y éter. Miscible con la mayoría de los aceites volátiles y aceites estables, con excepción del aceite de castor.

Usos: es utilizado como un solvente, vehículo y lubricante.

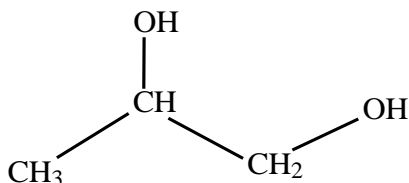
Método de Fabricación: es obtenida como un residuo de la destilación del petróleo a 330-390°C.

Estabilidad: es inflamable expuesto a la luz y calor, puede oxidarse comúnmente en formulaciones con peróxido.

Incompatibilidades: es incompatible con oxidantes fuertes.

Precauciones: se recomienda no almacenar junto a oxidantes o fuego.

Propilenglicol

Fórmula Química:

Descripción: líquido inodoro e incoloro de sabor agrdulce a temperatura ambiente, pero con ligera fragancia si se le entibia.

Solubilidad: es soluble en agua, acetona y cloroformo; y miscible en éter, disuelve numerosas sustancias orgánicas

Usos: su costo moderado, poder solvente, hidromiscibilidad, capacidad humectante, bajo punto de congelación y atoxicidad en condiciones normales de manejo han dado merito para un amplio uso en alimentos y medicamentos. Siendo utilizado como un disolvente, cosolvente, emulsificante, deshidratante, emoliente y agente viscosante.

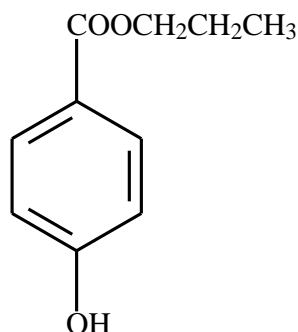
Método de Fabricación: para su obtención se parte de óxido de propileno, vía clorhídrica e hidroxilación hidrolítica con soluciones de carbonato de sodio.

Estabilidad: en las condiciones normales de manejo su estabilidad es buena aunque a altas temperaturas se deshidrata y oxida.

Incompatibilidades: no reportadas.

Precauciones: el poder higroscópico del propilenglicol ocasiona que la densidad disminuya, sin embargo puede perder el agua absorbida por calentamiento a 102-103 °C. La oxidación del propilenglicol produce productos como el ácido láctico, pirúvico y acético.

Propilparabeno

Fórmula Química:

Descripción: es un polvo cristalino color blanco, inodoro e insípido.

Solubilidad: es muy soluble en agua caliente, soluble en etanol, propilenglicol, acetona y éter, moderadamente soluble en benceno y cloroformo y ligeramente soluble en grasas y aceites.

Usos: es utilizado ampliamente como conservador.

Método de Fabricación: es preparado por la esterificación del ácido p-hidroxibenzoico con el n-propanol.

Estabilidad: se recomienda almacenar en recipientes bien cerrados. En soluciones acuosas se recomienda un pH de 3-6 ya que a mayor pH el propilparabeno sufre hidrólisis.

Incompatibilidades: en presencia de surfactantes no iónicos el propilparabeno sufre reducción de sus propiedades antimicrobianas.

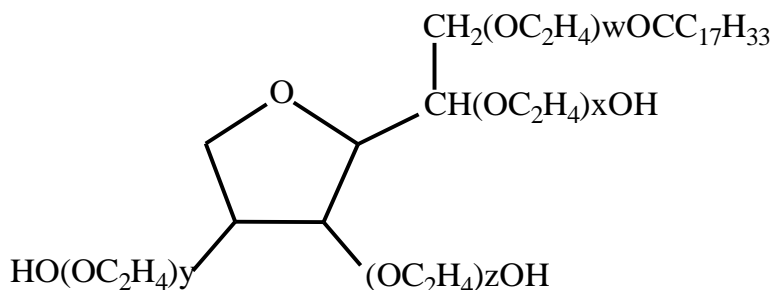
Precauciones: evitar la inhalación, ingestión y el contacto con mucosas de piel, ojos, boca y nariz.

Tweens (60 y 80)

Mono estearato de polioxietilen 20 sorbitan (Tween 60)

Mono oleato de polioxietilen 20 sorbitan (Tween 80)

Fórmula Química:



Donde:

$$w + x + y + z = 60 \quad \text{PM} = 1310$$

$$w + x + y + z = 80 \quad \text{PM} = 1309$$

Descripción: Los polisorbatos tienen un olor y sabor característico, su aspecto físico es variante ya que pueden ser sólidos como polisorbatos 61 y 65 o bien líquidos como los polisorbatos 20, 21, 40, 60, 80, 81 y 85. La diferencia de los polisorbatos radica en el grado de esterificación del sorbitol y del tipo de ácido utilizado para su síntesis.

Solubilidad: por lo general son solubles en agua y alcohol, e insolubles o poco solubles en aceite mineral y aceite vegetal. Los polisorbatos 60 y 80 son solubles en agua y alcohol e insoluble en aceite mineral y aceite vegetal.

Usos: son utilizados ampliamente en la industria farmacéutica como emulsificantes, solubilizantes y agentes viscosantes.

Método de Fabricación: son preparados iniciando con el sorbitol al cual se le elimina el agua y se forma el 1,4 sorbitan. Se esterifica al sorbitan con un ácido graso (ácido oleico o ácido esteárico) formándose un éster y luego la molécula sufre adición química del óxido de etileno, que con lleva a la formación del respectivo polisorbato.

Estabilidad: son estables en electrolitos además de ácidos y bases débiles. Sufren saponificación gradual en ácidos y bases fuertes además los esteres con ácido oleico son sensibles a la oxidación. Se preservan en recipientes cerrados protegidos de la luz y se almacenan en condiciones frescas.

Incompatibilidades: ocurre decoloración y precipitación con varias sustancias, especialmente con fenoles, taninos y compuestos con alquitrán.

Precauciones: evitar la ingestión e inhalación.

Anexo 3

Generalidades de MGA

CLASIFICACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

Las mallas deben ser de acero inoxidable y que cumplan con la NOM vigente.¹⁵

Letra guía	No. Malla	Abertura (mm).
	2	9.520
	4	4.760
A	8	2.380
A'	10	2.000
B	20	0.840
B'	30	0.590
C	40	0.420
C'	50	0.297
D	60	0.250
D'	70	0.210
E	80	0.177
E'	100	0.149
F	120	0.125
G	200	0.074

Tabla 1. Malla de abertura específica, clasificación de acuerdo a MGA 0891 de FEUM 10ª ed. 15

Clasificación del sólido	Sólidos vegetales y animales Partículas que pasan a través de:		Sólidos químicos Partículas que pasan a través de:	
	malla %	malla%	malla%	malla%
Muy grueso	A 100	D < 20		
Grueso	B 100	D < 40	B 100	C < 60
Semigrueso	C 100	E < 40	C 100	D < 60
Fino	D 100	E' < 40	E 100	
Muy fino	E 100		F 100	

Tabla 2. Clasificación de los polvos por su tamaño de partícula de acuerdo a MGA 0891 de FEUM 10ª ed. 15

CLASIFICACION DE SOLUBILIDAD

Termino	Partes de disolvente en volumen requeridas para 1 parte de soluto.
Muy soluble	Menos de una parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes
Soluble	De 11 a 30 partes
Ligeramente soluble	De 31 a 100 partes
Poco soluble	De 101 a 1000 partes
Muy poco soluble	De 1001 a 10 000 partes
Casi insoluble	Más de 10 000 partes

Tabla 3. Clasificación de solubilidad de acuerdo a FEUM 10ª ed.

Clasificación según FEUM 10ª ed. de una disolución de un polvo dentro de 30 min en un disolvente a temperatura de 25°C, con agitación vigorosa durante 30 s a intervalos de 5 min.

Referencias

1. Guzmán Urrutia R, Arenas R. Otomicosis. Estudio micológico y datos epidemiológicos en 114 casos. *Dermatología Rev.México*:2000; 4(44): p.161-166.
2. Araiza J, Canseco P, Bonifaz A. Otomycosis: Clinical and mycological study of 97cases. *Rev Laryngol Otol Rhinol*. 2006;127(4).p.251-254.PMID: 17315791
3. Munguia R, Daniel S. Ototopical antifungals and otomycosis: a review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2008; 72: 453-459. PMID: 18279975
4. Dirección General de Epidemiología [base de datos en internet], Anuario de Morbilidad 2012, Veinte principales causas de enfermedad por grupos de edad Estados Unidos Mexicanos. Población General, [acceso 04 de junio del 2014]. Disponible en:
<http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>
5. Dirección General de Epidemiología [base de datos en internet]. Anuario de Morbilidad 2012, Incidencia de Otitis media aguda (H65.0-H65.1) por grupos de edad, Población General del 2012, [acceso 04 de junio del 2014]. Disponible en:
<http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>
6. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. 4ª ed. México: Mc Graw Hill,2014;p.461-466.
7. Arenas R. *Micología Médica Ilustrada*, 4ª ed. México: Mc Graw Hill. 2011.p.120-123.
8. Vennewald I, Klemm E. Otomycosis: Diagnosis and treatment. *Clin Dermatol*. 2010 Mar 4;28(2):202-11. PMID: 20347664
9. Ho T, Vrabec J, Yoo D. Otomycosis: Clinical features and treatment implications. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 Nov; 135(5):787-9. PMID: 17071313

-
-
10. Fawcett DW, Tratado de histología, 12ª ed. Madrid: Interamericana.1995.p. 997-1022.
 11. Gil L, Vallejo L, Gil E. Otología, 2a ed. Madrid: Panamericana; 2004.p.13-27
 12. Escajadillo JR. Oídos, nariz, garganta y cirugía de cabeza y cuello, 3ª ed. México: El Manual Moderno.2009.p.1- 11.
 13. Gartner L, Hiatt J. Texto Atlas de Histologia. 3ª ed. México: MacGraw Hill. 2008.p.248-267
 14. Medline Plus. Kaneshiro NK, reviewed by A.D.A.M. Health Solutions, Ed. Zieve [base de datos en internet]. Anatomía del oído, [acceso 08 de octubre del 2014]. Disponible en:
http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/1092.htm y
http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/19596.htm
 15. Medline Plus. Kacker A, reviewed by VeriMed Healthcare Network. [base de datos en internet]. Anatomía del oído, [acceso 09 de octubre del 2014]. Disponible en:
http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/1126.htm y
http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_presentations/100015_1.htm
 16. Instituto Químico Biológico. Diccionario Ilustrado de términos biológicos, [base de datos en internet], Glándula ceruminosa [acceso 011 de octubre del 2014]. Disponible en: <http://www.iqb.es/diccio/g/images/cerumen/cerumen.htm>
 17. Lum C, Jeyanthi S, Prepageran N, Vadivelu J, Raman R. Antibacterial and antifungal properties of human cerumen. J Laryngol Otol. 2009 Apr;123(4):375-378. PMID: 18694532
 18. Mittal A, Kumar S. Role of pH of external auditory canal in acute otitis external. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Jan;66(1):86-91 PMID: 24605308
 19. Kim HJ, Roh K, Choi K, Noh S, Kim JK, Kim J. The difference of external auditory canal pH in groups of otitis external. Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2012;55:628-632

-
20. Slattery W. Otic Preparations. In: Swarbrick J. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. 3rd ed. New York: PharmaceuTech. Inc.; 2007.(11).p.2475-2485,1272-1278.
 21. Medline Plus. Vorvick L. reviewed by A.D.A.M. [base de datos en internet]. Anatomía del oído, [acceso 09 de octubre del 2014]. Disponible en: http://wwwqa.nlm.nih.gov/medlineplus/273/spanish/ency/esp_imagepages/1092.htm
 22. Casanova G. Atlas digital de Histología. Facultad de medicina UNAM. [base de datos en internet]. Oído, [acceso 21 de octubre del 2014]. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/atlas_histo/tomo_ii/ATLAS/ojo_oído_archivos/Page323.htm y http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/atlas_histo/tomo_ii/ATLAS/ojo_oído_archivos/Page903.htm
 23. Montalvo C. Atlas digital de Histología. Facultad de medicina UNAM. [base de datos en internet]. Oído, [acceso 21 de octubre del 2014]. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/atlas_histo/tomo_ii/ATLAS/ojo_oído_archivos/Page839.htm
 24. Carrillo J. Atlas digital de Histología. Facultad de medicina UNAM. [base de datos en internet]. Oído, [acceso 21 de octubre del 2014]. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/atlas_histo/tomo_ii/ATLAS/ojo_oído_archivos/Page919.htm
 25. Prasad S, Kotigadde S, Shekhar M, Thada N, Prabhu P, Souza T, Prasad K Primary Otomycosis in the Indian Subcontinent: Predisposing Factors, Microbiology, and Classification. Int J Microbiol. 2014; 2014.p.1-9 ID 636493.
 26. Fasunla J, Ibekwe T, Onakoya P. Otomycosis in western Nigeria. Mycoses. 2008 Jan; 51(1):67-70. PMID: 18076598
 27. Remington AG. Remington Farmacia. 20ª ed. México: Panamericana; 2003.(1).p. 839-848.
 28. Aulton M. Pharmaceutics: The science of Dosage form design. 2nd ed. Churchill Livingstone: USA; 2002.p.16-28, 36
-

-
-
29. The Nacional Formulary; The United States Pharmacopoeia, USP 35 USA: The United States Pharmacopoeia Convention; 2012(3).P. 4049-4050.
 30. Secretaria de salud, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 10^a ed. México: Comisión Permanente FEUM; 2008.p. 10, 15, 279, 284, 462, 466, 1082-1083.
 31. Allen LV, Ansel HC. Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 4ed. London and Chicago: Pharmaceutical Press; 2003.p.369-371
 32. Eng Y, El-Hawrani S. The pH of commonly used topical ear drops in the treatment of otitis external. Ear Nose Throat J. 2011 Jul;90(7):292. ID 21500167
 33. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5th ed. USA: American Pharmacists Association; 2006
 34. Maertens J. History of the development of azole derivatives. Clin Microbiol Infect 2004; 10 (1): 1–10. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1470-9465.2004.00841.x/asset/j.1470-9465.2004.00841.x.pdf;jsessionid=0D50B7C00796A8D7CD6119D6455E1F8F.f01t02?v=1&t=i1pm3d9n&s=e4c0850f0f203a968d0b63fb21ad7367959f3916>
 35. Bonifaz A. Valoración de la actividad *in vitro* de ketoconazol (R 41 400) frente a 100 cepas de *Candida spp.* aisladas de casos patológicos. LAB-acta 1995;7:15-9.
 36. Identificador [base de datos en internet]. PubChem Compound KETOCONAZOL no. 456201 [acceso 19 de enero del 2011]. Disponible en:
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=search&db=pccompound&term=456201\[uid\]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=search&db=pccompound&term=456201[uid])
 37. Blengio Pinto JR, Orzaga Samperio J, Pérez-Tamayo RAM. Goodman & Gilman Las bases farmacéuticas de la terapéutica. 11^a ed. Colombia: Mac Graw-Hill; 2007.p.1230-1231.
 38. Merck & Co., Inc. The Index Merck and Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 13th ed. USA: Wiley & sons; 2001.p. 948-949.
-
-

-
39. The Stationery Office. British Pharmacopoeia: London; 2002 (2).p.1123-1125.
 40. U.S. Securities and Exchange Commission [base de datos en internet]., [acceso de octubre del 2014]. Disponible en:
<http://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1099574/000155116313000103/filename27.htm>
 41. Thomson PLM [base de datos en internet]. PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, [acceso 03 de enero del 2011]. Disponible en:
http://www.facmed.unam.mx/bmnd/dirijo.php?bib_vv=6
 42. Rodríguez CR. Vademécum Académico de Medicamentos, 4ª ed. México: Mc Graw Hill; 2005 p.459-460.
 43. Dailymed, US National Library of medicine, [base de datos en internet]. Ketoconazole crem [acceso 26 de octubre del 2014]. Disponible en:
<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=07ebf885-76d1-49b6-87c9-529ef0acf83c>
 44. Avendaño LC. Introducción a la química farmacéutica, 2ª ed. España: Mc Graw Hill; 2004.p. 248-249.
 45. Pradeaun D, Cohen Y. Análisis y control de calidad en los medicamentos, principios activos, excipientes, dosis, envasado, etiquetado. 1ª ed. México: Limusa; 2001.p.413-426.
 46. Smith CG. The Process of New Drug Discovery and Development, 2nd ed. USA: Informa Healthcare; 2006.p.1-11, 21-31.
 47. Olaya E, García R, Torres N, Ferrero D, Torres S. Caracterización del proceso productivo, logístico y regulatorio de los medicamentos. Vitae, 2006; 2 (13):69-82. [acceso 27 de octubre del 2014]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/pdf/1698/169813258009.pdf>
 48. Pharmaceutical Research and Manufacturers of America. [datos en internet]. Clinical Trials: The Phases of Drug Testing and Approval, [acceso 04 de noviembre del 2014]. Disponible en:
<http://www.phrma.org/innovation/clinical-trials>

-
-
49. Bajaj S, Singla D, Sakhuja N. Stability testing of pharmaceutical products. JAPS 2012: 02 (03); 129-138. [acceso 27 de octubre del 2014] Disponible en: http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/409_pdf.pdf
 50. Secretaria de Salud, Norma Oficial Mexicana NOM-O73-SSA1-1993, [datos en internet]. Estabilidad de fármacos y medicamentos, [acceso 01 de septiembre del 2014]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/073ssa105.html>
 51. Fundación Iberoamericana para la Gestión de Calidad [datos en internet]. Diseño de experimentos, [acceso 09 de agosto del 2010]. Disponible en: http://www.fundibeq.org/opencms/export/sites/default/PWF/downloads/gallery/methodology/tools/disen%C3%B3_de_experimentos.pdf
 52. Montgomery DC. Diseño y análisis de experimentos. 2ª ed. México: Limusa Wiley; 2004.p.2-5, 218-276.
 53. Brittain H. Particle-Size Distribution, Part I, Representations of Particle Shape, Size, and Distribution. [datos en internet], Pharmaceutical Technology North America [acceso 04 de noviembre del 2014]. Disponible en: <http://www.pharmtech.com/pharmtech/data/articlestandard//pharmtech/492001/3391/article.pdf>
 54. Skiba M, Skiba LM, Marchais H, Duclos R, Arnaud P. Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations. Int J Pharm. 2000 Mar 30; 198(1):1-6. PMID: 10722946. Disponible en: <http://drug.pharmacy.psu.ac.th/wbfile/7200182635.pdf>
 55. Brock T, Madigan M. Micología, 6ª ed. México: Prentice Hall Hispanoamericana; 1993.p.330-332.
 56. Petel R, Petel Z, Petel K, Petel M. Formulation and evaluation of microemulsion based gel of ketoconazol, ISSN:2319-8141, 3(2) 93-111 Disponible en: <http://www.ijupbs.com/Uploads/8.%20RPA1415021015.pdf>