



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

Efecto de la temperatura en una
Suspensión de Nistatina

Tesis

*Que para obtener el Título de:
Químico Farmacéutico Biólogo*

Presenta:

Laura Salvador Gómez

México, D. F.

1977.



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.

Tesis 1917
LAP _____ 59
ADQ _____
ECHA _____
RDC _____ 358
S _____



QUINIA

Jurado asignado originalmente:

Presidente: Profesora Ethelvina Medrano de Jaimes.
Vocal: Profesor Alfredo Garzón Serra.
Secretario: Profesor Andrés Zuñiga Padilla.
1er. Suplente: Profesor Héctor Lara Farjeat.
2do. Suplente: Profesor José Luis Ibarnea Avila.

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorios Ofimex, S.A.

Sustentante: Laura Salvador Gómez.

Asesor del Tema: Profesor Andrés Zuñiga Padilla.

Supervisor Técnico: Profesor Alfredo Garzón Serra.

A mis padres

Con cariño.

y gracias por su esfuerzo realizado.

A mis hermanos

Por el apoyo que me brindaron.

A Rafaél.

A mis Maestros

por su valiosa orientación.

Y hago patente mi sincero agradecimiento a los

Laboratorios Ofimex, S. A. y a los

Laboratorios Chinoín.

C O N T E N I D O

		Página.
I	INTRODUCCION.....	1
II	GENERALIDADES.....	3
III	PARTE TEORICA.....	6
IV	MONOGRAFIA.....	20
V	TRABAJO EXPERIMENTAL.....	27
VI	RESULTADOS.....	43
VII	CONCLUSIONES.....	55
VIII	BIBLIOGRAFIA.....	56

I.- INTRODUCCION.

El objeto de este trabajo, es el de formular una suspensión de Nistatina para uso pediátrico que garantice una estabilidad física y química, además de microbiológica, de por lo menos 18 meses.

Durante el desarrollo de medicamentos es necesario -- considerar como factor importante su estabilidad química, física y microbiológica, para poder obtener información detallada de como y cuando el fármaco se degrada y la velocidad a la que esto ocurre, ya que como es sabido los medicamentos en condiciones normales de almacenamiento son susceptibles -- de sufrir degradaciones por diferentes causas como son: LUZ pH, FUERZA IONICA, HIDROLISIS, OXIDACION, etc., y que además la biodisponibilidad del fármaco puede variar dándonos una -- respuesta terapéutica no esperada que en ocasiones puede ser menor o traer como consecuencia respuestas secundarias no -- deseadas.

La estabilidad química de un medicamento se puede predecir, sometiendo las muestras a un análisis acelerado, para lo cual se hace uso de temperaturas elevadas, este tipo de -- análisis nos proporciona datos útiles como: Orden de Reac--- ción, Tipo de Degradación, Velocidad de Degradación, obte--- niéndose a partir de ellos, Vida Media del Medicamento, Tiem--- po de Expiración (fecha de caducidad) o tiempo en que tarda--- el medicamento en bajar a 90% de su potencia a temperatura -- ambiente, para así poder determinar tiempo de almacenamiento que permita tener en el mercado un producto química y física--- mente estable.

La industria farmacéutica conoce la gran importancia de las pruebas de estabilidad, aunque ha sido, en los últi--- mos diez años cuando se ha dado el mayor avance en ésta área.

En donde la aplicación de ciertos principios fisicoquímicos ha proporcionado grandes ventajas en el desarrollo de nuevas formas Farmacéuticas, que sean estables químicamente.

Unicamente a través de estas apreciaciones siempre y cuando se efectuen con precisión, es posible hacer uso adecuado de los datos obtenidos, cuando se han sometido a almacenamiento en condiciones exageradas con el fin de predecir la estabilidad a condiciones normales de almacenaje.

II.- GENERALIDADES.

Antiguamente los laboratorios farmacéuticos evaluaban la estabilidad de las preparaciones farmacéuticas sometiéndolas a observación durante un año o mas tiempo, por ser éste el que normalmente permanecían almacenados y en uso, como éste método era muy lento, la mayoría de los laboratorios recurrieron a análisis acelerados de la estabilidad, basándose en las leyes de la cinética química que permite predecir la estabilidad de un fármaco.

Como es sabido los medicamentos sufren degradaciones en condiciones normales de almacenamiento, para considerar estable un medicamento, éste debe serlo en sus propiedades químicas, físicas y microbiológicas desde su manufactura hasta que llega a ser consumido por el paciente.

En el desarrollo de un medicamento, es necesario considerar entre otros factores su estabilidad, es decir, tener una información detallada de como el principio activo pierde potencia y la velocidad con lo que ésto ocurre, y si el medicamento, según el caso, no adquiere un olor o color extraño a tal punto en que ya no es aceptable; si hay cambios en su homogeneidad, nitidez, consistencia, velocidad de disolución, o si sufre contaminaciones microbiológicas, etc.

Dentro de las formas farmacéuticas existentes en el mercado conteniendo NISTATINA, encontramos tabletas orales, tabletas vaginales, grageas, cremas, ungüentos y polvo para suspensión, de éstas, la última es de uso pediátrico, e implica problemas de diferente índole el reconstituirla, como son: agua a usar, volumen a adicionar, colocación de la etiqueta y por lo tanto altura de la marca en ella, manipulación por manos inexpertas, etc.

Un posible programa en el desarrollo de un medicamento que elimine los problemas citados puede ser el siguiente:

- a) Estudio de la estabilidad del principio activo empleando diferentes solventes, pH, exposición directa a la luz, seleccionando el método analítico más específico, preciso y exacto.
- b) Desarrollo de la formulación más adecuada probando la estabilidad del principio activo en varias formulaciones con ciertas variantes.
- c) Pruebas en planta piloto observando la estabilidad del medicamento en diferentes empaques.
- d) Confirmación de la estabilidad del medicamento manufacturado en planta piloto en el empaque definitivo.
- e) Pruebas de manufactura de los lotes a escala de producción.
- f) Confirmación de la estabilidad en todos los aspectos del producto en el mercado.

Es importante hacer notar que los cambios en la composición original del medicamento, tales como excipientes, pH, tipo de material de empaque en contacto con el producto en proceso de manufactura, etc., necesitan de una reconsideración en la estabilidad del medicamento.

Se puede predecir la estabilidad química de un medicamento a temperatura ambiente haciendo el análisis acelerado de su estabilidad a temperaturas elevadas (estabilidad acelerada) y con ayuda de la cinética química obtener el orden de reacción y la velocidad a la que el principio activo se descompone. Se puede obtener el tiempo de vida media del medicamento o bien el tiempo en el que el principio activo pierde el 10% de su concentración original a temperatura ambiente; el cálculo para pasar de la estabilidad a altas temperaturas a temperatura ambiente se hace por medio de la ecuación de Arrhenius.

En cuanto a la estabilidad física, se puede tener una idea de los cambios en el aspecto físico de muchas maneras, según el caso; por ejemplo, puede ser observación directa, o con equipo apropiado del medicamento cuando éste se somete a temperaturas elevadas, cuando se expone a la luz directa, o bien ciclándolo de temperaturas elevadas a temperatura ambiente, o de temperaturas bajas a temperatura ambiente, etc.

III PARTE TEORICA.

En éste capítulo abordamos factores que experimentalmente no fueron tratados; pero se considera que representan un grado de importancia tal, que es conveniente enunciarlos teóricamente para complementar el trabajo experimental realizado.

Dentro de dichos conocimientos debemos considerar los siguientes:

- 1.- Forma de determinar el orden de la reacción, las cuales pueden ser de orden cero, primer orden, pseudo primer orden, segundo orden, pseudo segundo orden.
- 2.- Influencia del pH sobre la degradación.
- 3.- Influencia de la temperatura sobre la degradación.
- 4.- Catálisis ácido-base en la degradación.
- 5.- Influencia de la fuerza iónica sobre la degradación.
- 6.- Influencia de la luz en la degradación.

1.- FORMA DE DETERMINAR EL ORDEN DE REACCION.

REACCION DE ORDEN CERO: Son aquellas en que la velocidad de reacción (descomposición), no es función de la concentración, sino que está determinada por otro factor; en la figura No. 1 se indica su expresión matemática y su representación gráfica, debe observarse que al graficar concentración contra tiempo se obtiene una línea recta, cuya pendiente es negativa.

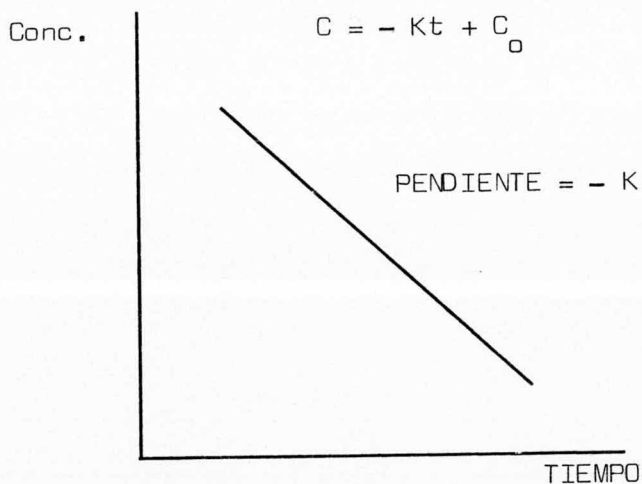


FIGURA No. 1 Expresión matemática y gráfica para reacciones de orden cero.

REACCION DE PRIMER ORDEN: Son aquellas en las cuales se encuentra experimentalmente que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración de la sustancia reaccionante. En la figura No. 2 se indica su expresión matemática y representación gráfica. Puede verse que al graficar el logaritmo de la concentración en función de tiempo, se tiene una línea recta, cuya pendiente es igual a $-K/2.303$

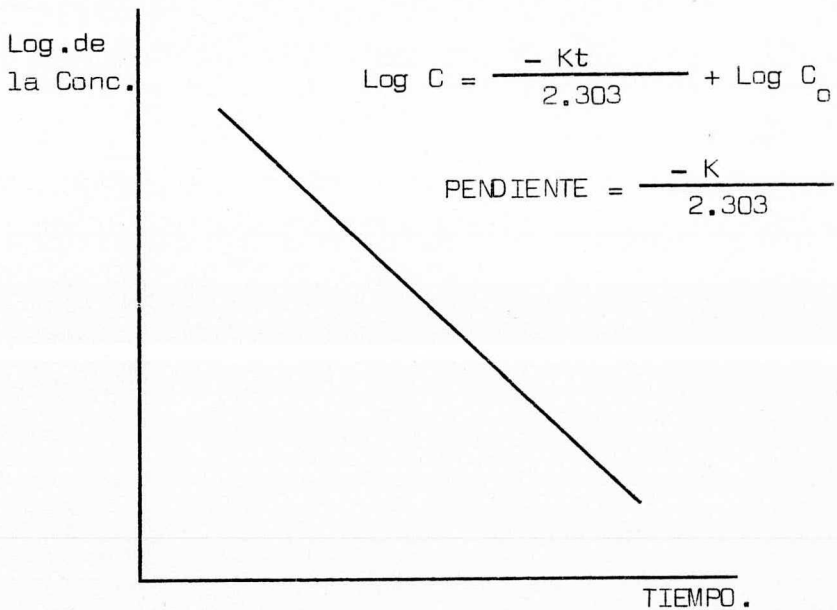


FIGURA No. 2 Expresión matemática y gráfica para reacciones de primer orden.

REACCIONES DE SEGUNDO ORDEN: En tales reacciones la velocidad está relacionada con las concentraciones de dos compuestos reaccionantes. En la figura No. 3 se indica su expresión matemática y representación gráfica.

Y graficando $1/C$ en función del tiempo se tiene una línea -
recta.

En donde: $1/C = Kt + 1/C_0$.

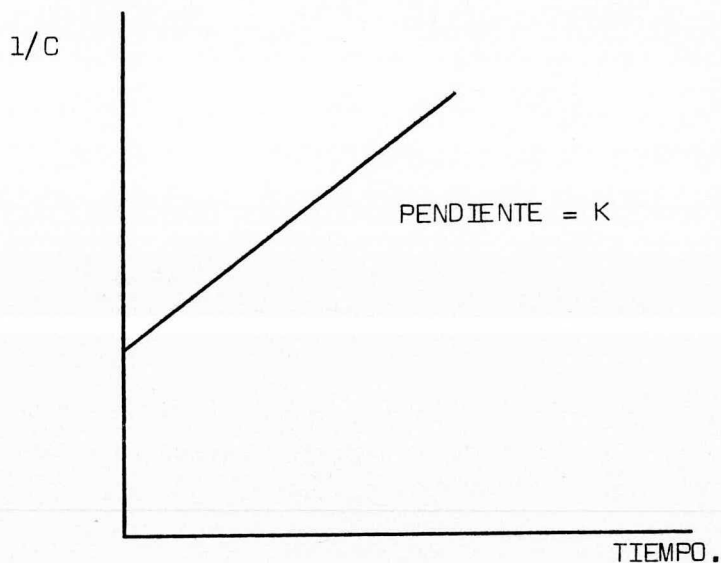


FIGURA No. 3 Expresión matemática y gráfica para reacciones de segundo orden.

REACCIONES DE PSEUDO PRIMER ORDEN: Son aquellas en que experimentalmente muestran cinética de primer orden a pesar de que realmente son reacciones de segundo orden.

REACCIONES PSEUDO ORDEN CERO: Son frecuentes, en suspensiones y emulsiones y se refieren a reacciones en que la substancia al estado sólido no se descompone y la descomposición del compuesto en solución (sin exceso de soluto) muestra cinética de primer orden.

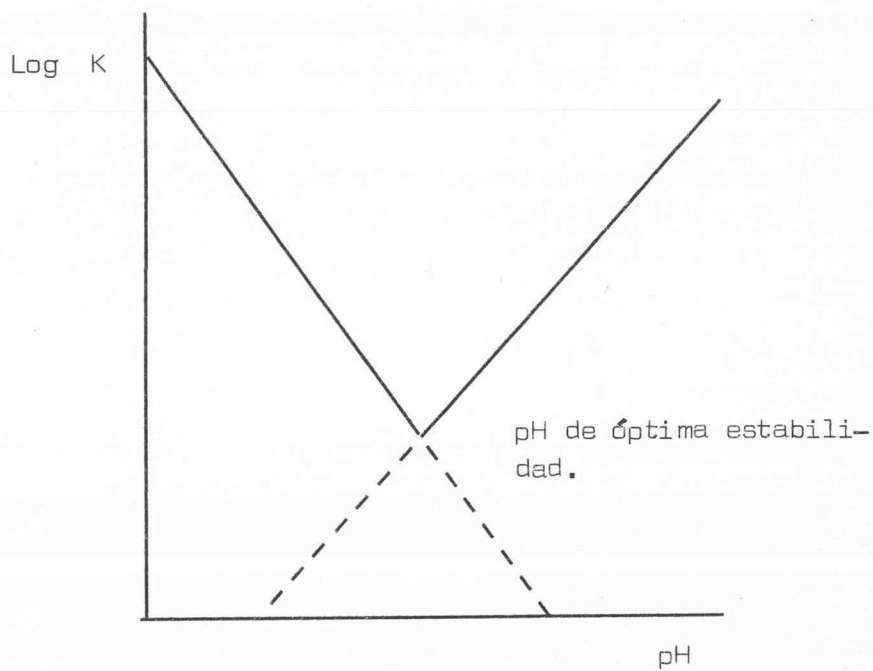
2.- INFLUENCIA DEL pH.

La magnitud de la velocidad de la reacción de hidrólisis catalizada por iones hidrógeno o hidroxilo, pueden variar considerablemente por el pH.

Sabemos que la catálisis por iones hidrógeno, predomina en el rango del pH bajo, mientras que la catálisis por iones hidroxilo se efectúa a valores de pH altos, cuando nos encontramos en un rango de pH intermedio, ésta velocidad puede ser independiente del pH, o bien catalizada por ambas.

La determinación de éste efecto sobre nuestra forma farmacéutica la llevamos a cabo, al preparar nuestro producto a diferentes valores de pH.

El pH de estabilidad óptima puede ser determinado si nosotros graficamos el logaritmo de la constante de la velocidad contra pH, el punto de inflección de ésta curva, nos indicará el pH de estabilidad óptima, éstas pruebas las podemos efectuar a temperaturas altas con el objeto de acortar el tiempo de prueba.



3.- INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA.

Un gran número de factores, además de la concentración, pueden afectar a la velocidad de una reacción. Entre ellos y uno de los más importantes es la temperatura, ya que la velocidad de muchas reacciones aumenta de dos a tres veces, aproximadamente, por cada 10° de elevación de la temperatura. El efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción viene dado por la ecuación de Arrhenius.

$$\text{Log.}K = \text{Log.} A - \frac{E_a}{2.303} \frac{1}{T}$$

En donde:

K = Velocidad específica de la reacción.

A = Factor de frecuencia.

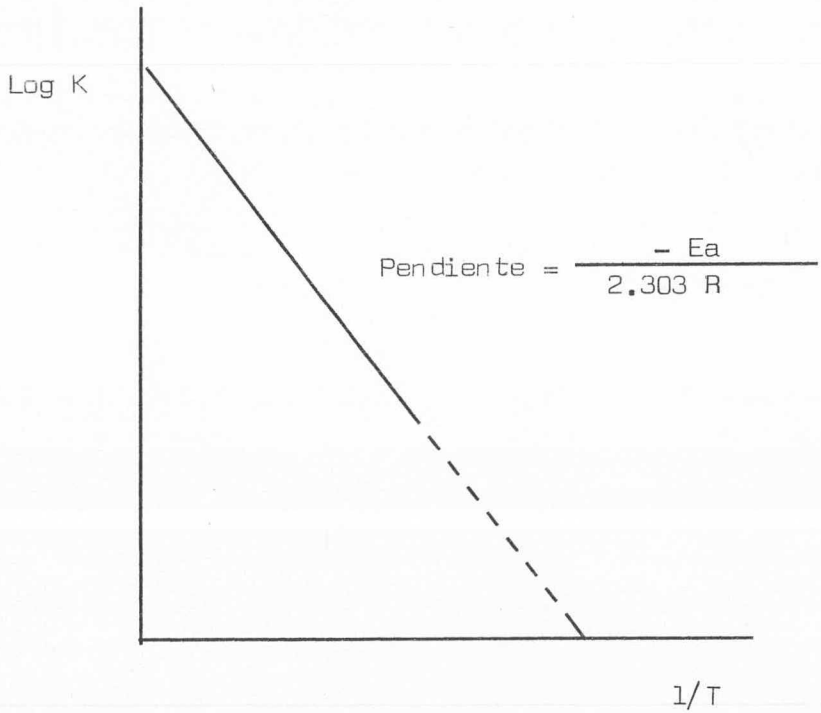
Ea = Energía de activación.

R = Constante de los gases (1.987 cal/grado mol).

T = Temperatura absoluta.

Las constantes A y Ea, pueden calcularse determinando K a diferentes temperaturas y representando gráficamente $1/T$ frente a Log. de K, pues como se observa la pendiente de la recta así obtenida es $-E_a/2.303 R$, y la ordenada en el origen es Log. de A, a partir de las cuales es fácil deducir Ea y A.

$$\text{Log } K = \text{log } A - \frac{E_a}{2.303 R} \cdot \frac{1}{T}$$



ECUACION Y GRAFICA DE ARRHENIUS.

De los estudios de orden de reacción y aplicación de la ecuación de Arrhenius, se pueden seguir los estudios de estabilidad acelerada.

Después se representan gráficamente los logaritmos de las velocidades específicas de descomposición frente a los valores recíprocos de las temperaturas absolutas y extrapolando la línea resultante a una temperatura ambiente de 20°C, así por ejemplo, se obtiene el valor de K a esa temperatura y con él se calcula la estabilidad del medicamento en condiciones normales.

Efecto de la temperatura en la actividad de los antibióticos:

En 1972 se hizo una determinación del efecto de la temperatura sobre la actividad de los antibióticos, haciendo una incubación a 25, 30, 35 y 41°, utilizando *C. Albicans* como microorganismo de prueba, desarrollando el crecimiento de *C. Albicans* en caldo de sabouraud que se leyó nefelométricamente; los tubos de prueba contenían un total de 10 ml. inoculados con 0.5 ml. de un cultivo de *C. Albicans* 489, fueron incubados a 25, 30, 35 y 41°, hasta que se desarrollara una actividad (60-90 min.) y en éste punto se adicionó cierta cantidad de Nistatina y se determinó la turbidez en un nefelómetro (filtro OR2) aproximadamente con 50 minutos de intervalo después de su homogenización.

La estructura más común de *C. Albicans* 489 a diferentes temperaturas fué analizada como sigue: Un volumen de 0.1 ml. de una serie de diluciones decimales (hasta de 10^{-5}) de un cultivo que fué inoculado en las cuatro series de placas conteniendo varias concentraciones de Nistatina. Cada serie fué incubada por 40 horas a 25, 30, 35 o 41°, y fueron contadas las colonias desarrolladas en cada placa. El control de cuenta fué hecho en agar simple en la dilución de 10^{-5} . De los resultados, la proporción de los organismos en el cultivo original capaces de crecer en cada una de las

temperaturas, en presencia de las diferentes concentraciones de antibióticos fué calculada. El diagrama fué hecho con el % original de inóculo atenuado contra la concentración de antibióticos para cada ajuste de condiciones, y la concentración (ID99) que se atenuó al 99 % del inóculo original, fué leído por interpolación.

Efecto de la Temperatura en la Actividad Biológica.

Las placas experimentales de difusión dieron resultados altamente equivocados porque la difusión fué pobre a través del agar y la medida de la zona pudo ser incrementada (pero no claramente) por una preincubación de la placa pre parada a 4°. Además, como la fase lenta del organismo indicador se incrementa con una incubación a una temperatura inferior, las placas incubadas a bajas temperaturas mostraron un efecto de preincubación (incrementando la zona de medida) superponiéndose sobre un efecto intrínseco de temperatura que pudiera existir. La solución obvia; preincubación de todas las placas por una determinación experimental, período óptimo entre la incubación a la temperatura de cultivo adecuada. Esto no pudo ser adoptado debido a que la orilla sufrió un cambio cuando el período de predifusión fué prolongado.

El resultado no muy claro fué obtenido de la determinación usando C. Albicans sometida a diferentes temperaturas, pero la estructura popular de los experimentos sugiere que la Nistatina fué progresivamente más activa cuando la temperatura se decremента.

Esta conclusión se tomó gracias a los resultados que presenta la curva experimental como se muestra en la figura, en que la Nistatina fué virtualmente inactiva a 41°, pero fué más y más activa cuando la temperatura de incubación se decremента.

Temperatura de incubación	Nistatina u ml ⁻¹
25	5.1 (0.32)
30	8.5 (0.53)
35	11 (0.69)
41	16 (1)

4.- DEGRADACION POR CATALISIS ACIDO BASE.

Comunmente en la formulación de un líquido, se agrega un amortiguador, con el objeto de regular el pH, pero sin embargo, éstas sales adicionadas, pueden favorecer la degradación, por tal motivo es necesario evaluar el efecto de la concentración del amortiguador.

Las sales usadas comunmente como amortiguadores son: acetatos, fosfatos, boratos, etc.

5.- INFLUENCIA IONICA.

La concentración de sales empleadas en la formulación de una forma farmacéutica, puede aumentar o disminuir la velocidad de degradación del principio activo en solución.

Cuando el principio activo está cargado positivamente y ésta sufre una catálisis ácida, se observa un incremento de la fuerza iónica por la adición de sales, como ejemplo, la adición de cloruro de sodio, provoca un incremento en la velocidad de degradación.

Si el principio activo está cargado positivamente y sufre una hidrólisis alcalina (catálisis por grupos hidróxilo), y la fuerza iónica es aumentada por la adición de una sal, hay un decremento en la velocidad de la degradación.

Ahora bien si el principio activo que va a sufrir una posible degradación, es una molécula neutra, cambios en la fuerza iónica por la adición de sales, pueden no afectar la velocidad de degradación.

Tipos de degradación; La descomposición del principio activo dentro de una forma farmacéutica, puede llevarse a cabo por diferentes procesos como son:

- a) Hidrólisis.
- b) Oxico-reducción.
- c) Racemización.
- d) Descarboxilación.
- e) Rompimiento de anillos.
- f) Fotólisis.

Las más comunes, por la naturaleza de los principios activos son las reacciones del tipo de hidrólisis y óxido--reducción.

Hidrólisis:

Una gran cantidad de formas farmacéuticas, contienen principios activos con grupos funcionales del tipo de éster o amida, los cuales pueden sufrir hidrólisis en solución, como son los anestésicos, antibióticos, vitaminas y barbitúricos.

La hidrólisis en ésteres, puede llevarse a cabo por catálisis ácida, alcalina o enzimática.

En un momento determinado podemos parar esa hidrólisis si tomamos en cuenta los factores que afectan a ésta:

a) pH.- Si fisiológicamente es adecuado, el principio activo en solución debe ajustarse a su pH de máxima estabilidad y la relación de la solución amortiguadora debe man-

tenerse en la mínima concentración.

b) Tipo de solvente.- El reemplazar en forma parcial o total el agua con un solvente de constante dieléctrica baja, causa una gran inhibición en la velocidad de hidrólisis.

c) Formación de complejos.- La velocidad de hidrólisis puede ser afectada tanto por el efecto estérico como por el efecto polar.

Oxido-reducción.- Existe una gran cantidad de productos que sufren degradación por oxidación, y sabemos que la oxidación se puede llevar a cabo por presencia de oxígeno molecular, radicales libres o trozos de metales.

Es necesario tener en cuenta los valores de contenido de oxígeno en el agua, ya que una gran cantidad de reacciones de oxidación se llevan a cabo en solución.

Ahora bien, muchas de éstas degradaciones por oxidación solo requieren de una pequeña cantidad de oxígeno para desatar una reacción en cadena, por lo tanto es necesario el usar en algunas ocasiones agentes antioxidantes y secuestrantes para lograr una mejor protección.

6.- FOTOLISIS.

Dentro de los puntos relevantes, debemos tomar en cuenta que los principios activos pueden ser degradados por la absorción de energía radiante en forma de luz, en particular a la luz ultra-violeta, y dentro de ésta la de longitud de onda más corta; según la ecuación.

$$E = 2.859 \times 10^5 / \lambda \quad \text{Kcal. por mol.}$$

En nuestra forma farmacéutica, debemos hacer control de estabilidad desde el punto de vista:

a) Químico, el cual nos informará, si hubo o no degradación, su mecanismo, o bien si existe alguna interacción — con los ingredientes que forman parte de ésta forma farmacéutica, como son colorantes, agentes conservadores, etc.

b) Física. Es indudable, que son muchos los cambios que sufre un producto durante su vida, como por ejemplo, el crecimiento de cristales, cambios en la forma cristalina, — aumento o disminución en la velocidad de disolución, así como cambios en el tiempo de desintegración, "caking" en las — suspensiones, cambio o aparición de color, presencia de sedimento en las soluciones.

c) Biodisponibilidad.— Las alteraciones que puede sufrir un principio activo puede afectar la biodisponibilidad, así tenemos que una degradación química puede afectar — directamente la respuesta terapéutica esperada o bien presentar productos que pueden ser tóxicos, así también los cambios físicos, la respuesta terapéutica pudiera ser muy pobre en éste caso debido a una absorción deficiente, por cambio — de forma cristalina, aumento del tamaño de los cristales, — etc.

IV MONOGRAFIA.

a) NISTATINA.

La Nistatina es un polvo amarillo o ligeramente café-de débil olor característico que recuerda al de los cereales, higroscópico, inestable al calor, aire, luz y humedad. Sus soluciones acuosas empiezan a perder actividad inmediatamente después de prepararse. Tiene carácter anfótero y propiedades reductoras. Es inestable en un intervalo de pH de 2.0-9.0. Contiene no menos de 2000U/mg. sobre base seca - (USP XVIII). Según BP 1968 contiene no menos de 3000 U/mg.

Fórmula desarrollada:

La estructura no ha sido completamente dilucidada.

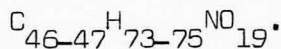
Contiene un grupo amino primario y un grupo lactona - que probablemente contribuya a su inestabilidad.

El espectro de absorción ultravioleta revela un sistema tetraeno que contiene un cromóforo con cuatro dobles - ligaduras y un sistema dieno.

El IR indica la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo y carbohidratos así como una estructura de lactona.

Fórmula condensada:

Aún no se han propuesto de acuerdo a los diferentes - investigadores sobre la fórmula condensada; la escuela inglesa (EPM XXV) propone la fórmula $C_{46}H_{77}NO_{19}$, mientras que la escuela americana (MI VIII) propone una fórmula con el siguiente rango:



Según las fórmulas propuestas los pesos moleculares son:

Escuela inglesa (EPM XXV) 948.12; escuela americana - (MI - VIII) 923.09-942.11.

La Nistatina fue aislada por Haxan y Browen, de cultivos de *Streptomyces Noursei*, obteniendo dos antibióticos, — uno más soluble en agua denominado Cicloheximida (actidionina) y otro menos soluble en agua denominado Nistatina, que fue extraída del micelio con metanol acuoso y precipitado, — adicionado eter a la solución alcoholica.

Solubilidad de la Nistatina:

Soluble en propileglicol.

Poco soluble en dimetil formamida, metanol, alcohol, propanol y butanol.

Insoluble en agua, cloroformo eter y benceno.

IDENTIFICACION:

Mezclar una solución acuosa de Nistatina con SR de — molibdofosfotungstato de sodio, preparando un testigo con dos ml de ésta misma solución acuosa, dejar reposar durante una hora al cabo de la cual el problema presenta un color verde más intenso que el del testigo.

Temperatura de fusión:

Se descompone gradualmente a más de 160°; a 250° se descomponen totalmente sin fundir.

Espectrometría en el UV:

Disolver 100 mg. en una mezcla de 50 ml. de metanol —

y 5 ml. de ácido acético glacial, aforan a 100 ml. de metanol.

Máximos de absorción: alrededor de 291. 305 y 319 μ .

La relación de las extinciones en espesor de 1 cm. es de —
291 μ /305 μ : 0.61–0.73; 319 μ : 0.83–0.96.

$E_{1\%}^{1\text{cm}}$ en etanol = 2.5
1 cm.

Poder rotatorio específico:

Determinado en solución al 1 %:

$(\alpha)_D^{25}$ - 10 en ácido glacial $(\alpha)_D^{25}$ - 21 en piridina.

$(\alpha)_D^{25}$ + 12 en dimetilformamida $(\alpha)_D^{25}$ - 7 en sol.0.IN
de HCl en metanol.

Ensayos de pureza:

pH:

Determinado en una suspensión de la muestra al 3%, —
en agua libre de bióxido de carbono, es entre 6.5 y 8.0.

Pérdida al secado:

Determinada a 60° y a una presión no mayor de 5 mm. —
de Hg. durante 3 horas. No más de 5%.

Toxicidad en ratones:

Injectar 5 ratones jóvenes que pesen 17.22 g. cada —
uno, con una cantidad equivalente a no menos de 600 U. sus—
pendiéndolas en no más de 0.5 ml. de una solución estéril al

0.5% de acacia en agua. La inyección debe de efectuarse en cerca de 5 seg.: ninguno de los ratones debe morir dentro de las 24 horas siguientes a la inyección; si uno de los ratones muriera, repitase la prueba en las mismas condiciones.

Valoración:

Proteger la sol. de la luz durante el tiempo que dure el ensayo. Disolver alrededor de 75 mg. exactamente pesados en suficiente dimetilformamida y aforar a 50 ml.; tomar 10 ml. de ésta sol. y diluirlos a 200 ml. con una solución que contiene 9.56% (p/v) de KH_2PO_4 y 11.5% (v/v) de sol. IN- de KOH y efectuar el ensayo biológico.

Conservación:

En recipientes perfectamente cerrados, al abrigo de luz y una temperatura no mayor de 5°. Bajo éstas condiciones la potencia disminuye alrededor de 1% por mes.

Incompatibilidades:

Es precipitada por el cloruro de sodio.

Toxicología:

DL₅₀ en ratones por vía intraperitoneal es de alrededor de 200 mg/kg. No se ha encontrado ningún cambio patológico cuando ha sido administrada a animales durante períodos largos a dosis repetidas.

Tolerancia:

Por vía oral a dosis altas puede llegar a producir algunos efectos gastrointestinales transitorios, raros y leves como diarreas, náuseas y vómitos. No hay evidencia de irritación o de efectos secundarios, cuando se usa localmen-

te en formas de lociones o ungüentos.

Acción antimicrobiana:

La Nistatina es un antibiótico fungisida y fungistático, pero no tiene propiedades antibacterianas. Es activo - contra algunos cuerpos patógenos como: *Candida Albicans*, - *Immitis Coccidioides*, y *Sporotrycum spp.* y levaduras. Puede producir resistencia microbiana hacia la Nistatina.

Absorción y excreción:

La Nistatina no es inactiva por las enzimas digestivas, pero es solo pobremente absorbida desde la región gastrointestinal y después de su administración oral es comúnmente excretado por las heces fecales. No es absorbido a través de la piel o membranas mucosas cuando se aplica tópicamente.

U s o s :

La Nistatina usada para el tratamiento local de moniliasis, especialmente la causada por *Candida Albicans*, incluyendo úlceras intestinales, anal, vulbovaginal y moniliasis cutánea. lo mismo que paroniquia monilial. Puede considerarse como un antibiótico de amplio espectro, así como profiláctico contra el crecimiento de *Candida Albicans*. Esto es en todo caso también pobremente absorbido, por inyecciones micóticas sistemáticas, o por histoplasmosis, turulosis, o coccidioidomicosis.

D o s i s :

Para el tratamiento o profilaxis de moniliasis intestinal la Nistatina es dada en dosis de 5000,000 U cada 8 hrs. Para infecciones sistemáticas la dosis mínima puede --

ser una mega unidad, cuatro veces al día (niños 100,000 U),- o incrementando su tolerancia, pero los resultados no han sido los esperados.

Para infecciones anales o vaginales, los supositorios y óvulos contienen 100,000 unidades y pueden ser incertados- una o dos veces al día y sustituirlos por dosis oral cuando- sea necesario. Para lesiones cutáneas las pomadas contie- nen 100,000 unidades por g. y para lesiones de la boca pue- den usarse suspensiones o algo similar.

Una suspensión acuosa recientemente preparada - - - (100,000 a 250,000 U/ml) ha sido usada como aerosol inhala- do en el tratamiento de broncopulmonías e infecciones fugo- sas.

Suspensión de Nistatina:

La Nistatina suspensión oral, es una mezcla de Nista- tina y uno o mas suspensores apropiados, dispensores, exci- pientes y agentes preservativos.

Debe de tener una potencia de no menos del 90% y no- más del 140% de la potencia marcada en término de unidades de Nistatina activa.

De acuerdo con el pH, contenido en humedad, potencia y otros requerimientos concernientes a suspensión oral de - Nistatina; es conveniente mantenerla tapada y al abrigo de- la luz. Es conveniente contener 2,400,000 unidades en 24 - ml.

Dosis usual: Oral, 500,000 unidades, tres veces al día.
Vaginal, 100,000 U.I. dos veces al día.

Rango de dosis usual: Oral, 1,500,000 a 6,000,000 de unida- des diarias.

Para uso externo: Tópicamente sobre la piel y membranas —
mucosas.

100,000 unidades por gramo en ungentos o suspensiones, dos-
veces al día.

Formas Farmacéuticas existentes:

Ovulos.

Cápsulas.

Ungüento.

Gotas.

Cremas.

Solución vaginal.

Grageas.

Polvo para suspensión.

Polvo.

Tabletas vaginales.

Comprimidos.

Comprimidos vaginales.

Suspensión.

V TRABAJO EXPERIMENTAL.

PLAN DE TRABAJO:

- 1.- Selección del método de control.
- 2.- Selección de la fase continua.
- 3.- Determinación del pH óptimo.
- 4.- Selección de la concentración y tipo de amortiguador.
- 5.- Preparación de la suspensión..
- 6.- Selección del conservador, frasco, tipo de tapa, y condiciones de llenado.
- 7.- Preparación del lote óptimo o final.

1.- SELECCION DEL METODO DE CONTROL.

Para ello se escogió el método químico, basado en un trabajo realizado en el Departamento de Desarrollo de los laboratorios Syntex. Donde se demostró la correlación entre éste método y el microbiológico. De cualquier manera para la estabilidad final o lote óptimo se corrió en paralelo un análisis químico y un microbiológico a los tiempos cero, medio y final, con el objeto de verificar los datos.

FUNDAMENTO;

El método analítico empleado en éste experimento, se basa fundamentalmente en una hidrólisis alcalina de la Nistatina y en una extracción del color formado con cloroformo, determinando la intensidad de color en un espectrofotómetro, 385 m μ . Se debe tener la precaución de cuidar el tiempo exacto de hidrólisis de la Nistatina, pues se ha visto que la máxima intensidad de color se obtiene a los dos minutos de iniciada la reacción, y disminuye rápidamente si no se introduce en un baño de hielo.

Una porción de 10 ml. de cloroformo extrae alrededor del 95% del color producido por la Nistatina y éste es casi completamente extraído con dos porciones de 10 ml. de cloroformo. Sin embargo es preferible hacer tres extracciones en total para obtener resultados mas uniformes.

El cloroformo de los extractos presenta turbidez debido a la presencia de agua, ésta turbidez es eliminada por la adición de 10 ml. de alcohol etílico.

Procedimiento: Se preparó una solución de Nistatina en dimetil formamida a una concentración de alrededor de 1000 U.I. por ml. En un tubo de ensaye se colocan 3 ml. de solución de hidroxido de sodio 1 N y se agrega una alcuota de 5 ml. de la solución de Nistatina a lo largo de la pa-

red del tubo cuidadosamente con el fin de que las capas queden estratificadas quedando la solución de Nistatina sobre la solución de hidróxido de sodio.

Las soluciones son fuertemente agitadas e inmediatamente se coloca el tubo en un baño de agua hirviente, exactamente durante dos minutos, al cabo de los cuales se pasa inmediatamente a un baño de agua con hielo por dos minutos y al término de éstos, se vacía el contenido a un embudo de separación de 60 ml. al que previamente se le han puesto 6 ml. de solución buffer de fosfatos pH 7.

El tubo de ensaye se enjuaga dos veces con agua destilada, agregando el agua de enjuague al embudo de separación. El color amarillo se extrae tres veces con tres porciones de 10 ml. de cloroformo agitando medio minuto cada vez. Los extractos de cloroformo son vertidos dentro de un matraz volumétrico de 50 ml. Se adicionan 10 ml. de etanol y se afora con cloroformo, se mezcla y se determina la densidad óptica en un espectro fotómetro, empleando una longitud de onda de 385 mμ en celdas de sílice de 1 cm. empleando cloroformo como blanco.

Se analizan alícuotas por duplicado en cada análisis simultáneamente con una solución patrón de referencia y la potencia es calculada de la solución patrón por regla de tres simple tomando en cuenta la cantidad de muestra pesada.

$$\% \text{ Nistatina en la sol. Pb} = \frac{\text{Absorvancia en sol. Pb.} \times \text{Absorvancia en el Sol Std.}}{\text{Absorvancia en sol. Pb.} \times \text{Potencia patrón}}$$

X 100.

2.- SELECCION DE LA FASE CONTINUA:

Para ello se prepararon varias suspensiones de Nistatina con diferentes fases como agua, propilenglicol y mezclas de ellos. Se sometieron cada una de ellas a una sola temperatura elevada (80°C), desarrollando en cada una de ellas el método analítico descrito anteriormente, y de acuerdo a los datos experimentales se seleccionó el agua como fase continua, la cual nos ofreció mejores resultados a diferencia de las otras muestras en las que el contenido del principio activo baja considerablemente. Según podemos observar en los siguientes resultados.

PRUEBA I.

Dos gramos de Nistatina en 100 ml. de jarabe simple.

PRUEBA II.

Dos gramos de Nistatina en 100 ml. de propilenglicol.

Las dos muestras se sometieron a una sola temperatura (80°C), durante 30 minutos, al transcurso de los cuales se analizaron por el método analítico descrito, siendo los resultados los que se muestran a continuación:

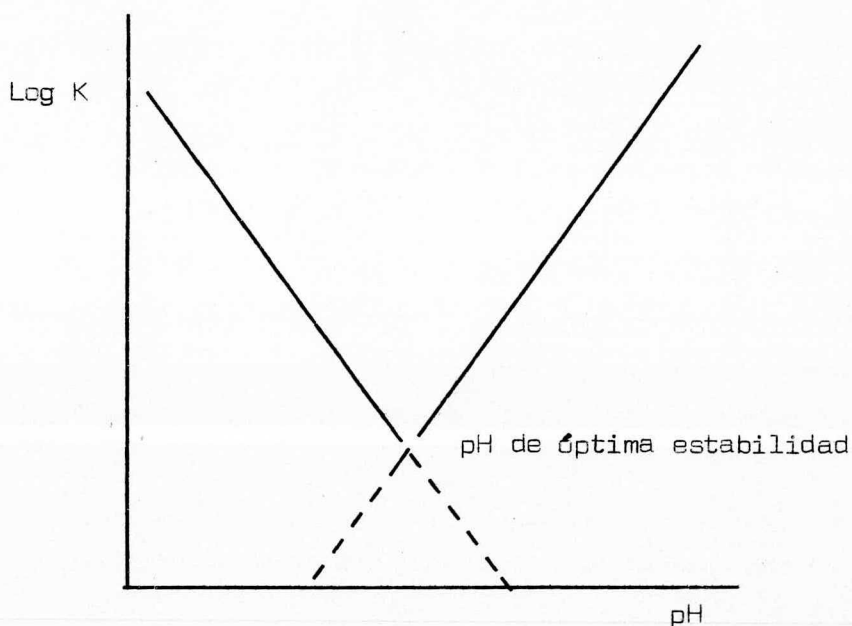
Análisis inicial.	— [Prueba I	98.68 %
		Prueba II	99.3 %
Análisis después de 30 min. a 80°C.	— [Prueba I	95.0 %
		Prueba II	25 %

Resultados en los que se puede apreciar que en la — suspensión hecha con propilenglicol el contenido del principio activo baja considerablemente, a diferencia de la suspensión hecha con jarabe simple.

Este fué el criterio que se tomó para considerar que el vehículo o fase continua a usar fuera el jarabe simple.

3.- DETERMINACION DEL pH OPTIMO:

El pH de óptima estabilidad puede determinarse cuando graficamos el logaritmo de la constante de velocidad, contra el pH, el punto de inflexión de la curva indica el pH de -- óptima estabilidad, como se puede apreciar en la sig. figu-- ra:



La determinación del pH óptimo en una suspensión de Nistatina se realizó preparando una suspensión a diferentes pH cuyo rango se seleccionó basandose en el hecho de que los productos poliénicos tienen su máxima estabilidad a pH neutro o ligeramente ácido, así los pH para ésta prueba fueron 4, 5, 6, 6.5, 7 y 8.

Cada una de estas suspensiones fué sometida a una temperatura de 70°C Durante 6 días.

El análisis químico ya enunciado anteriormente se real

lizó a los 2, 4 y 6 días determinando previamente la concentración inicial. Siendo los resultados los que se registran a continuación:

% Inicial 103.2 %.

pH	2 días.	4 días.	6 días.
4	14.5 %		
5	70 %	35.2 %	8.5 %
6	90 %	76. %	64 %
6.5	93.5 %	84.3 %	76 %
7	90 %	78.3 %	65 %
8	72 %	36 %	8 %

Determinación de Log. K para cada uno de los días:

2 días.

PH	K	Log. K
4	$103.2 - 14.5/2 = 44.35$	1.6459
5	$103.2 - 70.0/2 = 16.6$	1.2201
6	$103.2 - 90.0/2 = 6.6$	0.8195
6.5	$103.2 - 93.5/2 = 4.85$	0.6857
7	$103.2 - 90.0/2 = 6.6$	0.8195
8	$103.2 - 72.0/2 = 15.6$	1.1931

4 dias.

pH		K	Log. K
5	$103.2 - 35.2/4 = 17$		1.2304
6	$103.2 - 76.0/4 = 6.8$		0.8325
6.5	$103.2 - 84.3/4 = 4.72$		0.6739
7	$103.2 - 78.3/4 = 6.225$		0.7941
8	$103.2 - 36.0/4 = 16.8$		1.2253

6 dias.

pH			
5	$103.2 - 8.5/6 = 15.95$		1.2028
6	$103.2 - 64.0/6 = 6.533$		0.8151
6.5	$103.2 - 76.0/6 = 4.53$		0.6561
7	$103.2 - 65.0/6 = 6.36$		0.8035
8	$103.2 - 8.0/6 = 15.86$		1.2004

REPRESENTACION GRAFICA DEL TROFISMO

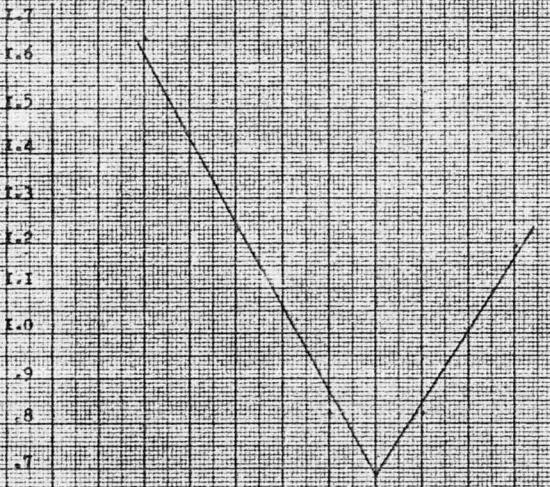
PARA 2 DIAS:

log X

1.7
1.6
1.5
1.4
1.3
1.2
1.1
1.0
.9
.8
.7
.6
.5
.4

4 5 6 7 8

PH



REPRESENTACION GRAFICA DEL D.C. CONTINUO

PASA A DIAS

OS.F

1.7

1.6

1.5

1.4

1.3

1.2

1.1

1.0

.9

.8

.7

.6

.5

.4

.3

.2

.1

0

0

0

0

0

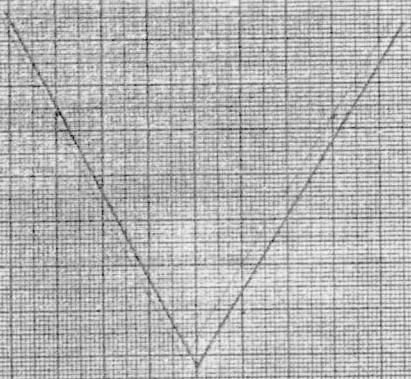
0

0

0

0

0



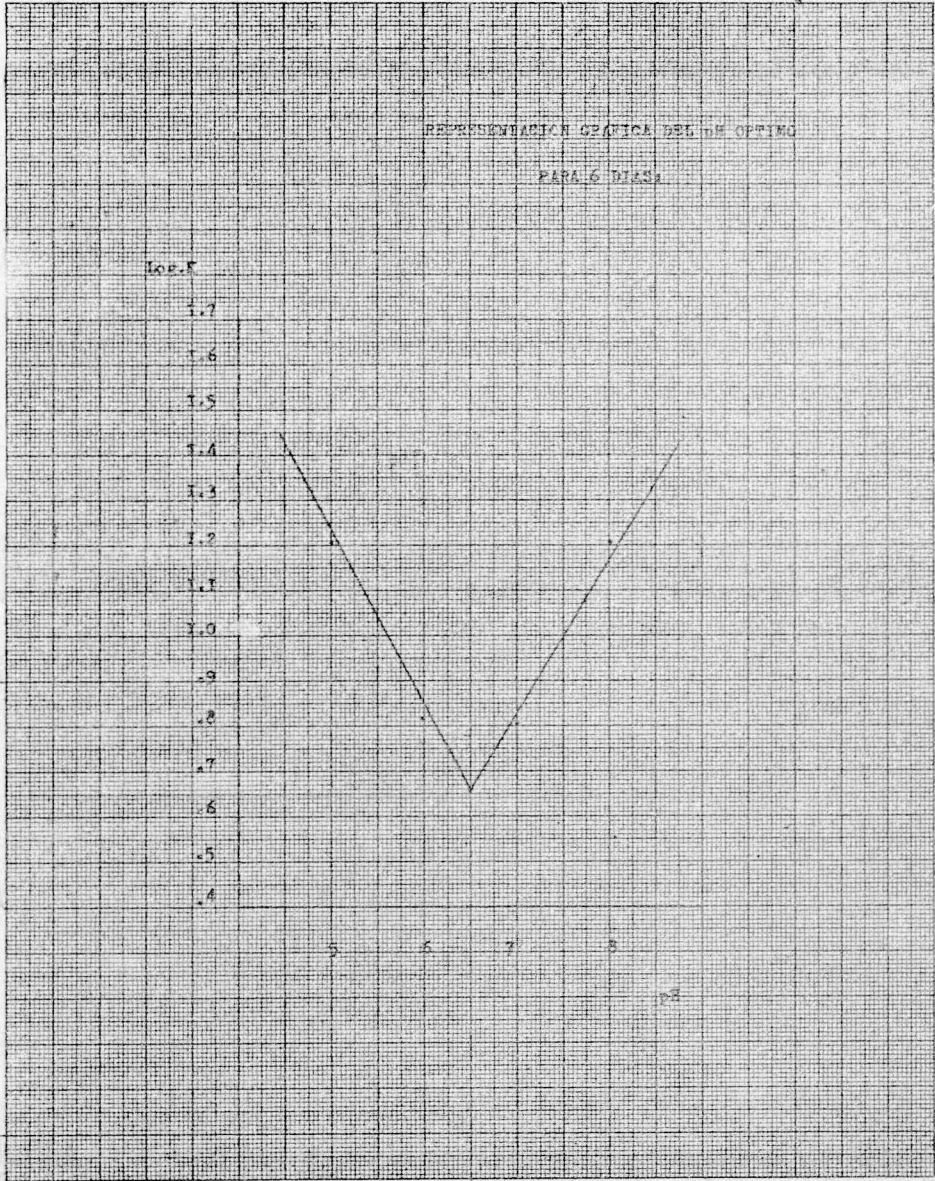
REPRESENTACION GRAFICA DEL CM OPTIMO
PARA 6 DIAS

Ind. F

1.7
1.6
1.5
1.4
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4

5 6 7 8

DS



Como se puede apreciar de los datos y gráficas registrados el pH de óptima estabilidad fué de 6.5, ya que como se puede ver la suspensión a pH muy ácido y muy básico se degrada rápida y considerablemente, presentando inclusive alteraciones drásticas en su aspecto físico, homogeneidad y consistencia.

4.- SELECCION DE LA CONCENTRACION Y TIPO DE AMORTIGUADOR:

En este caso se prepararon varios sistemas amortiguadores a pH 6.5, y se sometió a una sola temperatura elevada, una vez efectuados los cálculos correspondientes se seleccionó el sistema amortiguador de fosfato-citrato a una concentración de 0.1 M.

5.- PREPARACION DE LA SUSPENSION:

Tomando en consideración que es importante la presentación que debe tener una forma farmacéutica, se procedió a preparar una suspensión que fuera elegante, esto es, que el volumen de sedimentación fuera 100%, con buen sabor y olor, para ello se prepararon varias suspensiones con varios agentes — suspensores, como metocel, carboximetilcelulosa, azúcar, etc. Al igual que los pasos anteriores se sometieron a pruebas de estabilidad siendo en este caso solamente físicas (Sedimentación), y de los resultados obtenidos se seleccionó el azúcar como el agente más conveniente.

6.- SELECCION DEL CONSERVADOR, FRASCO, TIPO DE TAPA Y CONDI-
CIONES DE LLENADO:

Para ello se envasó la suspensión en frascos tipo III claro y ámbar, burbujeando nitrógeno con algunos y otros sin nitrógeno.

Se sometieron a una sola temperatura elevada y se llegó a la conclusión de que lo más adecuado es:

- a) Burbujear nitrógeno a la suspensión.
- b) El envase debe ser de vidrio tipo III - ámbar.
- c) Su empaque debe ser de tipo vinilite.

7.- PREPARACION DEL LOTE OPTIMO O FINAL:

Una vez que se controlaron todos los factores que — pudieran presentar dificultades en la formulación, se preparó un lote el cual lo llamamos óptimo o final, cuya formulación es la siguiente:

NISTATINA.....	100.000 U.I.
AZUCAR.....	50.000 g.
CONSERVADOR.....	0.200 g.
AMORTIGUADOR.....	0.100 M.
SABOR c.s.	
AGUA c.b.p.....	100 ml.

Este lote se envasó en las condiciones óptimas ya mencionadas, se dividieron las muestras en cuatro partes y se sometió a cada una de ellas a diferentes temperaturas, 37, - 60, 70°C y temperatura ambiente, esta última solo como referencia, durante el tiempo necesario hasta alcanzar en cada una de ellas aproximadamente la mitad de la concentración original.

Se hicieron determinaciones de concentración siguiendo el método químico espectrofotométrico, según el programa de la tabla que se presenta a continuación:

°C	T _o	8	15	22	36	43	57	70
70	X	X	X	X				
60	X		X	X	X	X		
37	X				X	X	X	X

Tiempo en días..

VI RESULTADOS.

El método analítico se aplicó en el lote de experimentación, el cual fué dividido en cuatro partes, siendo cada una de ellas sometida a diferentes temperaturas; temperatura ambiente, 37°C, 60°C y 70°C haciendo previamente un análisis inicial y en base a este análisis se procedió a hacer una determinación cada ocho días en cada una de las muestras hasta que estas alcanzaran aproximadamente la mitad de su concentración inicial, y de los datos obtenidos se pudo determinar.

- a) El orden de la reacción.
- b) Determinación de la velocidad específica de la reacción.
- c) La energía de activación de la Nistatina.
- d) El tiempo de vida media.
- e) La determinación de t_{90} a 25°C en la gráfica de Arrhenius.

Determinación del orden de la reacción.

El orden de una reacción puede determinarse por varios métodos.

1) Método de sustitución: Los datos experimentales acumulados en un estudio de cinética pueden sustituirse en la forma integrada de las ecuaciones que describen los diferentes órdenes. Cuando se encuentra la ecuación en la que los valores calculados de K permanecen constantes dentro de los límites del error experimental, para cada sustitución de los datos experimentales, se considera que las reacciones del orden al que corresponde la ecuación integrada de K.

2) Método Gráfico: Para averiguar el orden de una -

reacción también puede recurrirse a la representación gráfica de los datos, como se demostró en la fig. 3. En este caso, si al representar la concentración a t resulta una línea recta, la reacción es de orden 0. Si la representación gráfica de $\log. (a-x)$ en función de t da una línea recta, la reacción es de primer orden, y de segundo orden será si al representar $1/(a-x)$ frente a t también resulta una línea recta (en el caso de que las concentraciones iniciales sean iguales). Finalmente cuando las representaciones gráficas $1/(a-x)^2$ frente a t dé lugar a una recta, teniendo todos los reactivos la misma concentración inicial, la reacción es de tercer orden.

3) Método de la vida media: En una reacción de orden cero, la vida media es proporcional a la concentración inicial a . La vida media de una reacción de primer orden es independiente de a ; para una reacción de segundo orden en la que $a=b$, $t_{1/2}$ es proporcional a $1/a$; y para una reacción de tercer orden, en la que $a=b=c$, lo es a $1/a^2$.

Con los datos experimentales se determinó el orden de la reacción por el método gráfico, determinándose que se apega a una reacción de orden cero al graficar concentración (en %) contra el tiempo (días) observando que de ello resulta una línea recta con una pendiente igual a $-K$ con lo cual se demuestra lo anteriormente dicho. (gráficas 1; 1.1; 1.2).

Tiempo cero

Temperatura ambiente

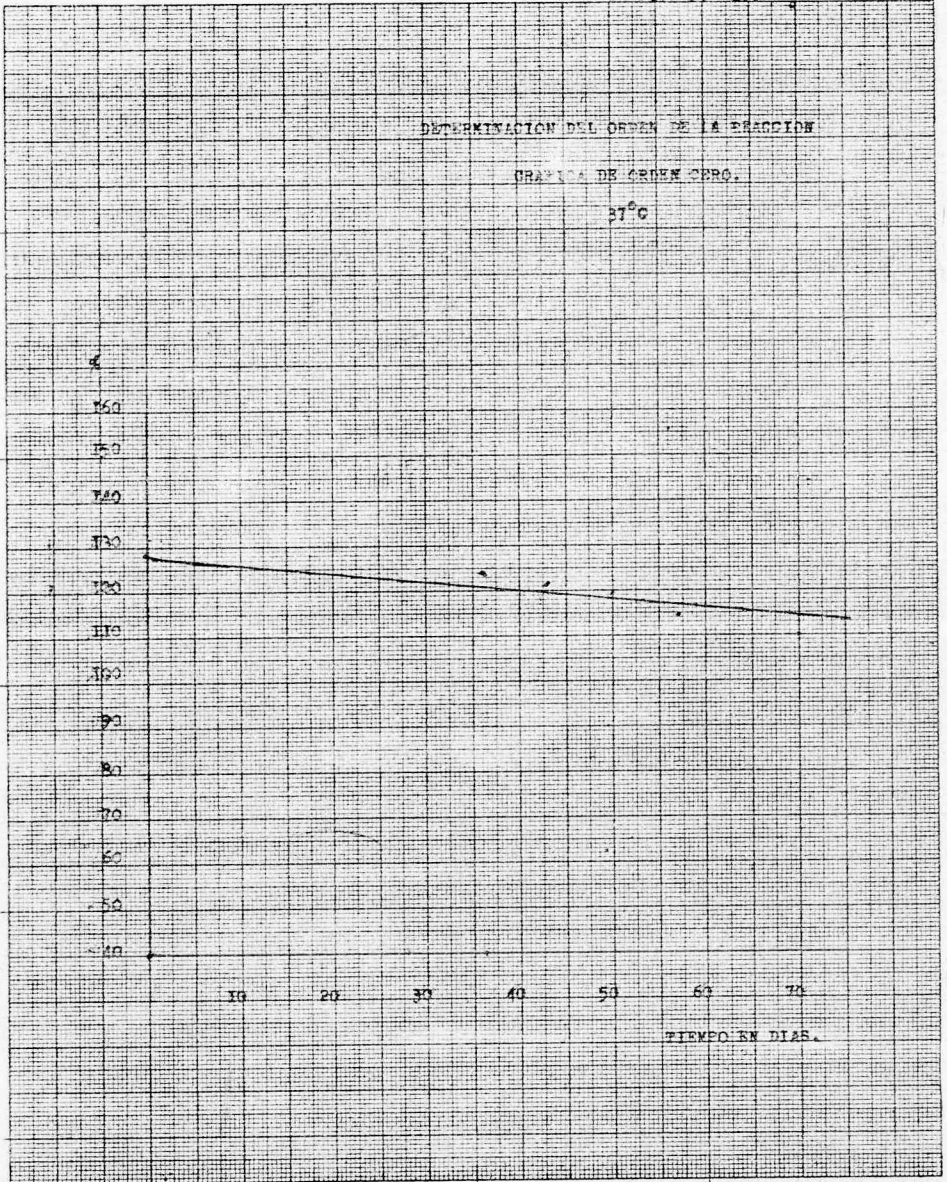
Concentración original 128%.

	8 días.	88 %
70°C	15 días.	62.72 %
	22 días.	cero mg/ml
	15 días.	110.7 %
	22 días.	98.32 %
	36 días.	78.7 %
60°C	43 días.	59.3 %
	36 días.	124 %
	43 días.	121.8 %
37°C	50 días.	119.3 %
	57 días.	114.5 %
	70 días.	110 %

DETERMINACION DEL ORDEN DE LA REACCION

GRAFICA DE ORDEN CERO.

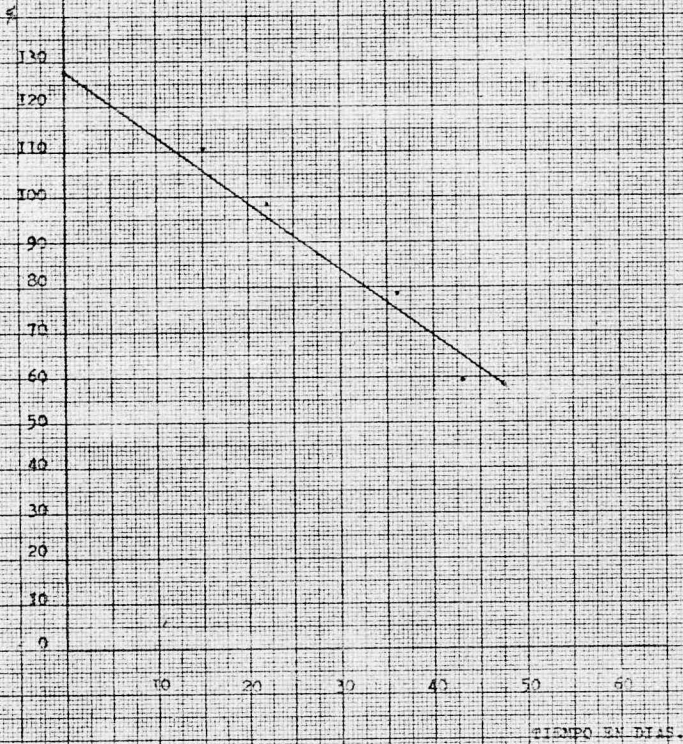
37°C



DETERMINACION DEL ORDEN DE LA REACCION

GRAFICA DEL ORDEN CERO.

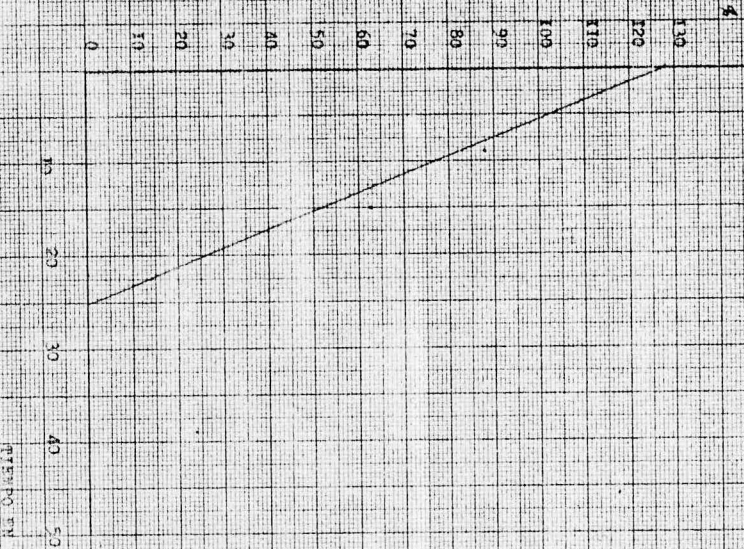
60°C



EXTRAPOLATION OF POWER OF A REGION

GRAPH OF THE OPTIMUM PERO.

70°C



Determinación de la velocidad específica de la reacción.

El objeto de este capítulo es estudiar la velocidad con que se producen las reacciones.

Como se puede observar de las gráficas 1, 1.1 y 1.2, al representar en estas la concentración (%), contra el tiempo (días), y de ello resulta una línea recta con una pendiente = a $-K$, se deduce que el orden de la reacción es cero, por lo tanto la fórmula a usar para la determinación de la velocidad específica será la sig.:

$$C = C_0 - Kt$$

C_0 = Concentración inicial

$$C + Kt = C_0$$

C = Concentración después de un tiempo t

$$K = \frac{C_0 - C}{t}$$

K = Velocidad específica

t = tiempo.

Determinación de K para 37°C

$$K = \frac{128 - 114}{60} = \frac{14}{60} = 0.233 \text{ \% días}^{-1}$$

Determinación de K para 60°C .

$$K = \frac{128 - 67}{40} = \frac{61}{40} = 1.525 \text{ \% días}^{-1}$$

Determinación de K para 70°C .

$$K = \frac{128 - 75}{10} = \frac{51}{10} = 5.1 \text{ \% días}^{-1}$$

Determinación de la energía de activación.

La energía de activación, E_a , es la energía que posee un número limitado de moléculas reaccionantes por encima de la energía molecular media. Es decir, que aquellas moléculas que hallan adquirido una energía E_a , están suficientemente activadas para entrar en reacción. Aunque solo una pequeña fracción del número total de moléculas puede estar en estado activado, la proporción de moléculas activadas aumenta con la temperatura y, como consecuencia se acelera la reacción. De este modo se explica el incremento de la velocidad de reacción cuando se eleva la temperatura.

La energía de activación de la Nistatina para 37°C y 70°C es:

$$\text{Log} \frac{k_2}{k_1} = \frac{E_a}{2.303 \times R} \frac{(T_2 - T_1)}{T_2 T_1} \quad (1)$$

En donde:

$$k_1 = 0.233$$

$$T_2 = 37^\circ\text{C} = 310^\circ\text{K}$$

$$k_2 = 5.1$$

E_a = Energía de activación.

$$T_1 = 70^\circ\text{C} = 343^\circ\text{K}$$

R = Cte. de los gases
(1.987 cal/grado mol).

Substituyendo en (1) tenemos:

$$\text{Log} \frac{5.1}{0.233} = \frac{E_a}{2.303 \times 1.987} \frac{(343 - 310)}{343 \times 310}$$

$$\text{Log } 21845 = \frac{E_a}{2.303 \times 1.987} - \frac{33}{106330}$$

$$1.3393 = \frac{E_a}{4.576} \times 0.00031$$

$$\frac{E_a}{4.576} = \frac{1.3393}{0.00031}$$

$$E_a = 4320 \times 4.576$$

$$E_a = \underline{20 \text{ K cal/mol.}}$$

Determinación del tiempo de vida media del producto:

Se entiende por vida media el período necesario para que la concentración original del medicamento llegue a ser la mitad de dicha concentración.

Tomando en consideración que el orden de la reacción es cero, la fórmula a emplear para la determinación del tiempo de vida media a 25°C será la sig.:

$$t_{1/2} = \frac{C_0 - C}{K} \quad (1)$$

En donde:

C_0 = Concentración original.

C = Un medio de la concentración original.

$t_{1/2}$ = Tiempo que tarda el producto en alcanzar la mitad de su concentración original.

K = Velocidad específica a 25°C.

Sustituyendo en (1), tenemos:

$$t_{1/2} = \frac{128 - 64}{0.05129}$$

$$t_{1/2} = \frac{64}{0.05129} = 1274 \text{ días.}$$

$$t_{1/2} = \frac{3.4 \text{ años.}}{\quad}$$

Determinación de t_{90} a 25°C en la gráfica de Arrhenius:

Una vez obtenidos los valores de K, que al graficarlos en forma de logaritmo, contra el inverso de la temperatura absoluta, obtenemos la curva de Arrhenius.

<u>K (días⁻¹)</u>	<u>Log K</u>	<u>F°C</u>	<u>T abs.</u>	<u>1/T</u>
0.05129	2.7101	25	298	0.003355
0.233	1.3674	37	310	0.003225
1.525	0.1909	60	333	0.003003
5.1	0.7076	70	343	0.002910

Determinación de t_{90} a 25°C

$$C_0 = 128\%$$

$$t_{90} = \frac{C_0 - C}{K}$$

$$C = 90\%$$

$$K = 0.05129$$

Sustituyendo valores tenemos:

$$t_{90} = \frac{128 - 90}{0.05129}$$

$$t_{90} = \frac{38}{0.05129} = 740.8 \text{ días.}$$

$$t_{90} = 2 \text{ años.}$$

GRÁFICA DE ARRHENIUS

$P_0 = 20.0 \text{ Kg/cm}^2$

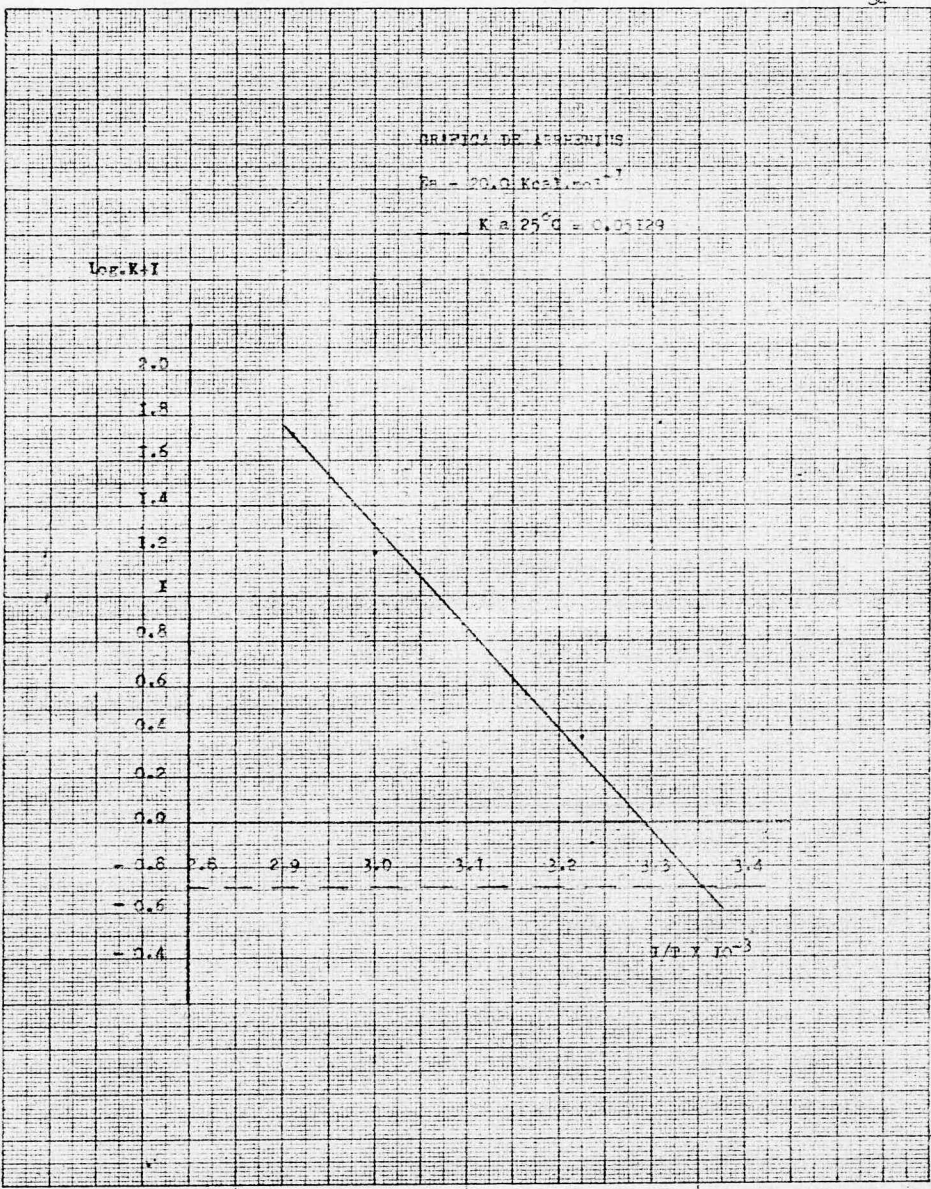
$K \text{ a } 25^\circ\text{C} = 0.00129$

Log.K+I

2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
-0.4

2.8 2.9 3.0 3.1 3.2 3.3 3.4

$1/P \cdot X \cdot 10^{-3}$



VII CONCLUSIONES.

- 1.- Es posible tener en el mercado una forma farmacéutica de Nistatina en suspensión.
- 2.- La fecha de caducidad (t_{90} a 25°C), con un 20% de — exceso es de dos años.
- 3.- La energía de activación es de 20.0 Kcal/mol.
- 4.- La vida media del producto es de 3.4 años.
- 5.- Los datos anteriores son válidos siempre y cuando se apeguen, al momento de preparar la suspensión, a lo — establecido en el estudio.

VIII BIBLIOGRAFIA.

- 1.- LACHMAN, L. et al.
The theory and practice of Industrial Pharmacy
LEA & FEBIGER.
PHILADELPHIA.
1970.
- 2.- OSO ARTUR, FARRAR GEORGE (ed)
The dispensatory of the United States of America.
27 Edition.
J. B. LIPPINCOTT COMPANY.
PHILADELPHIA, 1955.
- 3.- PARROT, E.L.
Pharmaceutical Technology, Fundamental Pharmaceutics
BURGESS PUBLISHING COMPANY.
MINNESOTA, USA.
1970.
- 4.- STECHER, P.G. (ed)
The Merch Index
8 Edition
MERCK & COMPANY, INC.
N. Jersey, USA.
- 5.- UNITED STATES PHARMACOPEIA.
18 Edition.
MARCK PRINTING COMPANY
Easton, P.A. 18042 (1970).
- 6.- MA. DEL CONSUELO HIDALGO Y MONDRAGON.
Farmacia Química.
(1970)

- 7.- KEITH, J. LAIDLER.
CHEMICAL KINETICS
Mc. GRAW-HILL Book Company, Inc.
NEW YORK
1950.
- 8.- MARTIN
REMINGTONS PHARMACEUTICAL SCIENCES
40 Edition.
Marck Publishing Company.
1970.
- 9.- DICCIONARIO DE ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS.
Ignacio Landero y Emilio Roseintein.
11a. Ed.
México, 1964.
- 10.- THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE STABILITY
AND BIOACTIVITY OF NYSTATIN. J. PHARM, PHARMAC.,
1973, 25, 401-407.
- 11.- THE INDIAN JOURNAL PHARMACY. N.B. SHAH., 32;
156 (1970).

Maquilamos su Tesis en
Offset.

Sto.Domingo 12 - 2.

Tel: 521 - 48 - 85.

=====