

00524  
73



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO DE UNA EMULSION SEMISOLIDA CON  
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE USO VAGINAL  
(C<sub>22</sub> H<sub>17</sub> Cl N<sub>2</sub>)

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**  
P R E S E N T A :  
**GUTIERREZ PERALTA ALMA NIDIA**



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

2003

A



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**      **Prof. Gabriel René Guzmán Martínez**  
**Vocal**            **Prof. María del Socorro Alpizar Ramos**  
**Secretario**      **Prof. María Esther Hernández Jiménez**  
**1er. suplente**    **Prof. Francisco García Olivares**  
**2o. suplente**     **Prof. Ernestina Fernández García**

**Sitio donde se desarrollo el tema:**

**Grupo Industrial FARMEX**  
**(Corporación farmacéutica, Productos MAVI)**

  
\_\_\_\_\_  
**QFB. Ma. Esther Hernández Jiménez**  
**Asesor del Tema**

  
\_\_\_\_\_  
**QFB. Rosalba Méndez Rangel**  
**Supervisor Técnico**

  
\_\_\_\_\_  
**Alma Nidia Gutiérrez Peralta**  
**Sustentante**

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a Dios por permitirme llegar a la meta que me fije, así como por la gente que puso en mi camino para la realización de este proyecto.

Gracia a mi madre y mis hermanos por el apoyo que me brindaron para que realizará mi sueño de terminar una carrera y así poder enfrentarme a la vida.

Muchas gracias a las profesoras Ma. Esther Hernández y Ma. del Socorro Alpizar por el apoyo brindado.

Gracias a Rosalba Méndez, Maribel Hernández, Catalina Guzmán, Lourdes Rangel, Loana Paniagua y Miriam Páez por la ayuda, la atención y paciencia otorgada durante el desarrollo de la tesis.

Gracias a Rubén Barragán Flores por el apoyo durante toda la carrera y todos los momentos vividos juntos, gracias por la paciencia tenida para sobrellevar altibajos de nuestra amistad.

Gracias a todos mis amigos de la carrera. Gracias a: Belinda, Claudia, Carlos Catana, Jazmín, Carlos Lugo, Anahí, Norma, Adriana y Ángel por todos los momentos alegres y tristes que pasamos juntos, por su apoyo brindado y su amistad, que hicieron más llevadera la vida en la facultad.

---

## Índice

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
1. Introducción	1
2. Planteamiento del problema	2
3. Objetivo general	3
4. Objetivos particulares	4
5. Hipótesis	5
6. Plan de trabajo	6
7. Antecedentes	7
7.1 Forma farmacéutica	7
7.2 Propiedades de los tensoactivos	11
7.3 Equipos para emulsificación	12
7.4 Diferentes usos de las emulsiones	15
7.5 Información general del principio activo	16
7.5.1 Nombre químico	16
7.5.2 Estructura química	17
7.5.3 Características físicas	17
7.5.4 Solubilidad	17
7.5.5 Sustancia relacionada	17
7.6 Farmacología del principio activo	18
7.6.1 Indicaciones terapéuticas	18
7.6.2 Farmacocinética y Farmacodinamia	18
7.6.3 Contraindicaciones	19
7.6.4 Precauciones en el embarazo y lactancia	19
7.6.5 Reacciones secundarias y adversas	19
7.6.6 Interacciones medicamentosas	19
7.6.7 Dosis y vía de administración	19
7.7 Información sobre los padecimientos	20
7.8 Estudio de Estabilidad Acelerada	22
7.9 Métodos analíticos	23
7.10 Validación del método analítico	24
8. Metodología	29
8.1 Material	29
8.2 Equipos e instrumentos	30
8.3 Sustancias y reactivos	30
8.4 Análisis del principio activo	31

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
8.4.1 Descripción	31
8.4.2 Punto de fusión	31
8.4.3 Solubilidad	31
8.4.4 Características reológicas	31
8.4.4.1 Densidad aparente	31
8.4.4.2 Densidad compactada	32
8.4.4.3 Índice de Carr (% de Compresibilidad)	32
8.4.4.4 Índice de Hausner	33
8.4.4.5 Velocidad de flujo	33
8.4.4.6 Ángulo de reposo	34
8.4.4.7 Distribución de partícula	35
8.5 Estudios de preformulación	35
8.5.1 Estabilidad en estado sólido	35
8.5.2 Degradación del principio activo	35
8.5.3 Compatibilidad con excipientes	36
8.6 Características químicas del principio activo	38
8.6.1 Métodos de identificación	38
8.6.2 Valoración del principio activo	39
8.7 Estudios de formulación	39
8.8 Características fisicoquímicas del producto terminado	39
8.8.1 Ensayo de identidad	39
8.8.1.1 Por cromatografía en capa fina (CCF)	39
8.8.1.2 pH Aparente	40
8.9 Valoración del producto terminado	40
8.10 Validación del método analítico	42
8.10.1 Linealidad del sistema	42
8.10.2 Precisión del sistema	43
8.10.3 Linealidad del método	43
8.10.4 Exactitud y repetibilidad	44
8.10.5 Especificidad del método	44
8.10.6 Reproducibilidad del método	45
9. Resultados y Análisis	47
9.1 Análisis del principio activo	47
9.2 Solubilidad	48
9.3 Reología del principio activo	50
9.4 Distribución del tamaño de partícula	51

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
9.5 Resultados del estudio de preformulación	53
9.5.1 Estabilidad del principio activo	53
9.5.2 Sistema de elución utilizado	54
9.5.3 Degradación del principio activo a diferentes condiciones	54
9.5.4 Compatibilidad con excipientes	55
9.6 Identificación del principio activo	61
9.6.1 Espectro del principio activo en Infrarrojo	61
9.6.2 Espectro de UV del principio activo	62
9.6.3 Cromatograma del principio activo	63
9.6.4 Cromatograma de la sustancia relacionada del principio activo	64
9.6.5 Valoración del principio activo	65
9.7 Estudios de formulación	65
9.8 Resultado de la estabilidad del principio activo	65
9.9 Resultados de formulaciones propuestas	66
9.10 Fórmula final	73
9.11 Método de fabricación	75
9.12 Estudios de estabilidad acelerada	78
9.13 Resultados del estudio de estabilidad acelerada	80
9.14 Validación del método analítico	84
9.14.1 Linealidad del sistema	84
9.14.2 Precisión del sistema	85
9.14.3 Linealidad del método	85
9.14.4 Exactitud del método	86
9.14.5 Reproducibilidad del método	87
10. Conclusiones	89
11. Referencias bibliográficas	91

## **1. INTRODUCCIÓN**

En la actualidad las infecciones vaginales por hongos y levaduras son muy frecuentes, por lo que se ha generado la necesidad de desarrollar tratamientos eficaces y al alcance de las mayorías.

La población femenina es la más afectada por microorganismos que causan enfermedades con síntomas desagradables, por lo que es de suma importancia desarrollar una forma farmacéutica que contenga un principio activo eficaz y que alivie este tipo de molestias, siendo de igual importancia el tipo de forma farmacéutica, que facilite su aplicación y que produzca resultados en poco tiempo.

Se desarrollará una crema siguiendo las buenas prácticas de fabricación, cumpliendo con los estándares de calidad establecidos por la organización responsable del proyecto.

---

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las infecciones vaginales que sufre la mayoría de las mujeres, son provocadas por microorganismos que son de fácil aparición, ya sea por contagio por prendas como toallas, trajes de baño o por contagio por contacto sexual con parejas que padecen estos padecimientos y no se han sometido a tratamientos de ningún tipo, ya que un tratamiento con este tipo de medicamentos se recomienda que se administre por las noches.

Factores como los antes mencionados, crean la necesidad de desarrollar medicamentos que ayuden en el tratamiento de este tipo infecciones; esta clase de medicamentos está especialmente enfocado a la población femenina que es la que se ve mayormente afectada; por otro lado se desarrollará un medicamento que sea accesible para las mayorías; ya que son padecimientos comunes y los tratamientos son costosos.

### **3. OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar una forma farmacéutica semisólida de uso vaginal que contenga el fármaco  $C_{22}H_{17}ClN_2$ , con acción antimicótica, de fácil aplicación y estable.

## **4. OBJETIVOS PARTICULARES**

- ❖ Realizar una investigación bibliográfica completa, tanto del principio activo, como de la forma farmacéutica.
- ❖ Evaluar el principio activo y los materiales necesarios para la forma farmacéutica.
- ❖ Determinar los factores fisicoquímicos que inestabilizan al principio activo, así como a la forma farmacéutica.
- ❖ Seleccionar los excipientes adecuados, tomando en cuenta datos bibliográficos y los obtenidos en el estudio de preformulación, así como las condiciones requeridas para una emulsión semisólida.
- ❖ Determinar los puntos críticos que afecten la estabilidad de la forma farmacéutica.
- ❖ Desarrollar una metodología fácil y sencilla para la elaboración de la forma farmacéutica, para su elaboración a gran escala en condiciones industriales, estableciendo los controles durante el proceso.
- ❖ Desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación del principio activo.
- ❖ Someter a estudios de estabilidad acelerada la formulación final en el empaque primario seleccionado.

## **5. HIPÓTESIS**

Al integrar los estudios de la etapa de preformulación se seleccionan los excipientes más adecuados y así como el proceso de fabricación para desarrollar una emulsión semisólida con actividad antimicótica, de uso vaginal, entonces se obtendrá un producto estable y de calidad.

## 6. PLAN DE TRABAJO

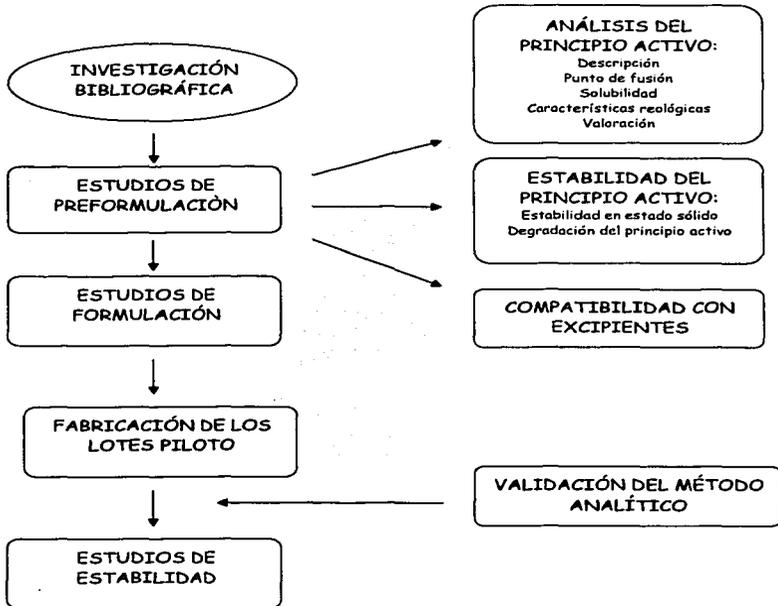


Fig. No. 1. Estrategia a seguir para desarrollar el nuevo producto farmacéutico.

## 7. ANTECEDENTES

### 7.1 FORMA FARMACÉUTICA

La emulsión es un sistema de dos fases que consta de dos líquidos parcialmente miscibles, uno de los cuales es dispersado en otro en forma de glóbulos. La fase dispersa, discontinua o interna es el líquido desintegrado en glóbulos. El líquido circundante es la fase continua o externa. (1)

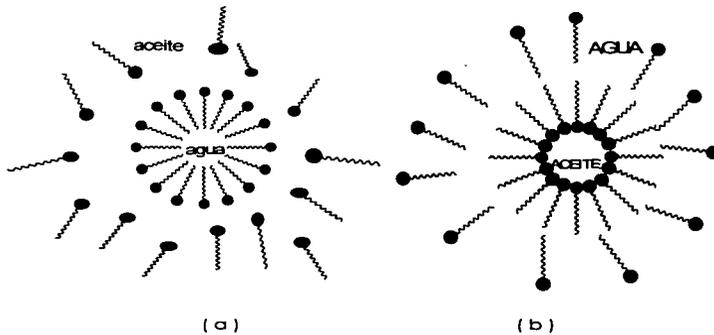


Fig. No. 2. Tipos de emulsiones. a) Emulsión agua en aceite (W/O). b) Emulsión aceite en agua (O/W).

Las emulsiones de aceite en agua tienen el aceite como fase dispersa en el agua, que es la fase continua. En las emulsiones agua en aceite, tienen el agua está dispersa en aceite, que es la fase externa.<sup>(1)</sup>

Las propiedades que son más evidentes y por lo general más importantes son: facilidad de dilución, viscosidad, color y estabilidad. Para un tipo dado de emulsión, estas propiedades dependen de lo siguiente:

- 1º) Las propiedades de la fase continua.
- 2º) La relación entre la fase interna y la externa.
- 3º) El tamaño de partícula en la emulsión.
- 4º) La relación entre la fase continua y las partículas (incluso las cargas iónicas).
- 5º) Las propiedades de la fase discontinua.

En una emulsión determinada, las propiedades dependen del líquido que forme la fase externa, o de si la emulsión es O/W o W/O. El tipo de emulsión que resulte depende:

- 1º) Del tipo, cantidad y calidad del tensoactivo.
- 2º) De la razón entre componentes.
- 3º) Del orden en que se añaden los componentes al mezclarlos.

La solubilidad de una emulsión es determinada por la fase continua; si la fase continua es W/O, la emulsión puede ser diluida con agua, si la fase continua es O/W, la emulsión se puede disolver en aceite. La facilidad con que se puede disolver una emulsión se puede aumentar si se reduce la viscosidad de la emulsión.<sup>(1)</sup>

La viscosidad de una emulsión cuando hay exceso de fase continua es virtualmente la viscosidad de dicha fase. Al aumentar la proporción de la fase interna aumenta la viscosidad de la emulsión hasta un punto en que la emulsión

---

deja de ser líquida. Cuando el volumen de la fase interna sobrepasa el de la externa, se aglomeran las partículas de la emulsión y la viscosidad aparente es parcialmente viscosidad estructural. (1)

Se puede regular la viscosidad de una emulsión de la siguiente manera:

a) Para reducir la viscosidad:

1º) Se aumenta la proporción de la fase continua.

2º) se reduce la viscosidad de la fase continua.

b) Para aumentar la viscosidad:

1º) Se agregan agentes espesantes o gomas a la fase continua.

2º) se aumenta la proporción de la fase interna.

3º) se reduce el tamaño de partícula de la emulsión o se reduce la aglomeración de las partículas existentes.

4º) se incorpora aire en estado de división fina como tercera fase.

La estabilidad de una emulsión depende de los siguientes factores: el tamaño de partícula, las cargas de las partículas, la naturaleza, la eficacia y cantidad del tensoactivo, y las condiciones de almacenamiento, ya sean, las temperaturas altas y bajas, la agitación y vibración o evaporación durante el almacenamiento o el uso. (2)

Para muchos fines industriales la definición de estabilidad incluye forzosamente la no coalescencia de las partículas de la emulsión y la no sedimentación. La incorporación de aire en una emulsión puede tener como consecuencia la reducción notable de la estabilidad. (2)

Se presentan excepciones en lo tocante al aspecto y el color de las emulsiones cuando se agregan colorantes y pigmentos y cuando ambas fases tienen índice

---

de refracción similar. En este último caso se forma una emulsión transparente sea cual fuere el tamaño de la partícula.

Se puede disminuir el tamaño de partícula por los siguientes medios:

- 1º) Aumentando la cantidad de tensoactivo.
- 2º) Mejorando el equilibrio hidrófilo-lipófilo del tensoactivo.
- 3º) Preparando la emulsión mediante la inversión de fases para obtener una " fase interna extendida".
- 4º) Mediante mejor agitación.

La facilidad de formación es modificada en mayor grado por la eficiencia y la cantidad del tensoactivo y por las propiedades inherentes de ambas fases. <sup>(2)</sup>

El análisis de las emulsiones tiene mucha relación con sus propiedades, por regla general se emplean métodos analíticos físicos y químicos. Aunque es variable el orden de importancia, según sea la emulsión que se esté analizando, por lo común es aplicable al siguiente orden:

Tipo de emulsión es de mucha importancia averiguar en primer término si la emulsión es O/W o W/O, lo cual se logra de diversas maneras:

- 1º) Determinando la conductividad eléctrica de la emulsión.
- 2º) Determinar su solubilidad en agua o en aceite.
- 3º) Utilizando colorantes solubles en agua o en aceite, que se dispersan en los medios afines a su naturaleza. El colorante puede usarse en forma líquida o sólida.

El pH de una emulsión es de importancia considerable. Es fácil determinar el pH con un equipo ordinario de electrodo de vidrio o con papel pH. Estos pueden dar un resultado erróneo si la emulsión contiene algún producto con tendencia a blanquear. <sup>(2)</sup>

---

El uso al que se destina la emulsión por regla general da una indicación de los componentes de la fase oleosa. En algunos casos se requieren análisis de identificación, destilación con disolventes y ensayos similares.<sup>(2)</sup>

También se puede efectuar la separación mediante la centrifugación, el calentamiento, la congelación, la dilución, la adición de sales o disolventes, y con respecto a una fase de aceite no volátil, por medio de la incorporación de la fase acuosa.<sup>(2)</sup>

Estos análisis, indican el tipo de emulsión, la clase del tensoactivo y la naturaleza y cantidad aproximada de la fase oleosa, por lo general suministran informes bastantes para intentar la duplicación con tensoactivos elegidos.<sup>(2)</sup>

## **7.2 PROPIEDADES DE LOS AGENTES TENSOACTIVOS**

Un agente tensoactivo es una sustancia que se suele agregar a una de las fases o en ambas para facilitar la formación de una dispersión estable. Los tensoactivos forman un grupo de la clase general de agentes de actividad superficial.<sup>(2)</sup>

Los tensoactivos se emplean en la formulación de emulsiones para facilitar la emulsificación y dar estabilidad a la emulsión. Estos efectos se producen por la reproducción de la tensión interfacial entre las dos fases y por acción coloidal protectora, respectivamente. Estos son sustancias muy complejas y parecen que cuanto más complejas con mayor eficiencia funcionan. Esto se tiene en cuenta en la práctica de formulación y con frecuencia se usan combinaciones de dos o más tensoactivos.<sup>(2)</sup>

Los tensoactivos se pueden dividir en iónicos y no iónicos. El tensoactivo iónico consta de un grupo lipófilo orgánico y un grupo hidrófilo. Los tensoactivos iónicos se subdividen en aniónicos y catiónicos, según sea la naturaleza del grupo activo. Ordinariamente se considera que la porción lipófila de la molécula es la porción de actividad superficial. Como es de suponer, no son mutuamente compatibles los agentes aniónicos y catiónicos de actividad superficial, pues en virtud de las

---

cargas iónicas tienden a neutralizarse entre sí y se nulifica su actividad superficial. Los tensoactivos no iónicos son totalmente covalentes y no tienen ninguna tendencia a la ionización. Por consiguiente, puede asociarse con otros agentes no iónicos de actividad superficial. Los tensoactivos no iónicos son mas inmunes contra la acción de electrolitos que los agentes aniónicos de actividad superficial.<sup>(3)</sup>

De las diversas propiedades de los tensoactivos, una de las mas importantes es el equilibrio hidrófilo-lipófilo. Este es una expresión de atracción simultánea relativa de un tensoactivo con respecto al agua y al aceite. El equilibrio hidrófilo-lipófilo de un tensoactivo determina el tipo de emulsión que tiende a ser formada.<sup>(3)</sup>

La solubilidad de un tensoactivo es de suma importancia en la preparación de emulsiones. Es preciso que el tensoactivo permanezca disuelto en cualesquiera condiciones de almacenamiento. Con frecuencia es posible aumentar la solubilidad de un tensoactivo con algún cotensoactivo. También son usuales diversos disolventes como conjugadores o cosolventes.<sup>(3)</sup>

La tensión interfacial es la fuerza que se requiere para romper la superficie entre los líquidos no miscibles; es de interés en la emulsificación en virtud de que cuanto menor es la tensión interfacial entre las dos fases de una emulsión, tanto mas fácil es la emulsificación.

## **7.3 EQUIPOS PARA EMULSIFICACIÓN**

La elección del equipo depende de la aplicación que se haya de dar a la emulsión que se prepara.

La finalidad de la maquinaria para emulsificación, ya sea sencilla o compleja, es dividir y dispersar la fase interna en la externa, de suerte que el tamaño de partícula de la emulsión que resulte sea suficientemente pequeño para evitar la unión y la consiguiente desintegración de la emulsión en el tiempo requerido de la estabilidad. La agitación a mano es la más sencilla.<sup>(4)</sup>

---

- La rotación mecánica de las paletas suele ser lenta, y si la emulsión no es muy viscosa, es reducida la eficiencia de agitación. Para agitar emulsiones viscosas que contienen gran proporción de sólidos, geles jabonosos, sustancias resinosas, etc., es más eficiente un agitador mecánico de paletas giratorias.
- El agitador planetario fue inventado para emulsiones de gran viscosidad, como los que se hacen en la industria de comestibles. En un agitador planetario la paleta efectúa dos movimientos circulares: uno de rotación sobre su propio eje y otro de traslación en una órbita circular. De esta manera se puede mezclar bien una gran porción de masa espesa.
- Aireación: La agitación por medio de burbujas de aire o de gas, que pasan por un líquido, no es mucho más eficiente que la agitación a mano, a menos que se usen volúmenes muy grandes de gas. El uso de aire o de vapor es más práctico en sistemas de poca viscosidad.
- Agitación por medio de hélice: Uno de los tipos más usuales de maquinaria para emulsificación es el de una o más hélices montadas sobre un eje en un tanque mezclador. Esta clase de agitación es muy eficiente para agitar emulsiones de viscosidad reducida o mediana.
- Agitación con turbinas: La inclusión de pantallas fijas en la pared del tanque o adyacentes a las hélices, como un rotor y estator de turbina, aumenta considerablemente la eficiencia de la agitación. El agitador de turbina es el preferible de los dos métodos, pues las pantallas de desviación en un tanque, con frecuencia, ocasionan áreas de poca o ninguna agitación, aunque el efecto general es el de aumentar la eficiencia de agitación.
- El molino de coloides se puede considerar como una modificación de la turbina. En virtud de las tremendas fuerzas cortantes que se aplican a la emulsión, el aumento de temperatura durante la emulsificación puede ser de

15 a 80°C, y las más de las veces es necesario el enfriamiento externo. Se puede efectuar la molienda de líquidos y pastas.

- En un homogeneizador, para efectuar la emulsificación, se pasan ambas fases por una válvula de resorte, generalmente a fuerte presión. Esto es útil en algunos casos en que la homogeneización a fuerte presión fomenta la coaglutinación de las partículas finas de emulsión que forma. El segundo paso de homogenización, a menor presión, desintegra los grumos y da un producto de menor viscosidad. Empleando ingredientes similares, los homogeneizadores dan por lo general una emulsión de menor tamaño medio de partícula que los molinos de coloides, aunque no es tan uniforme dicho tamaño de partícula. Los homogeneizadores sirven para líquidos o pastas y la velocidad de producción es poco afectada por la viscosidad.
- Un invento mas creciente en la rama de equipos emulsificadores es el oscilador de alta frecuencia o ultrasónico.

Como es de suponer, se emplean muchas combinaciones de los equipos citados y se están estudiando nuevos diseños. Por ej.: Para la elaboración de cremas cosméticas una paleta movida a motor en un tanque de dobles paredes es complementada con un pequeño agitador de turbina de gran velocidad. Este aparato es muy eficaz para la emulsificación inicial de poca cantidad de material en el fondo del tanque y facilita la emulsificación incluso al concluir una partida cuando está lleno el tanque. (4)

El equipo de laboratorio para estos y otros tipos de emulsificación es usado comúnmente. La agitación de laboratorio es por lo común mucho más vigorosa y eficiente que la de equipos a escala de planta. Otra diferencia que a menudo tiene aún mayor importancia en la correlación entre los resultados de laboratorio y de los de planta, es la regulación de la temperatura de emulsificación y después de ella. Por ej.: En pruebas de laboratorio es rápida la variación de temperatura. El enfriamiento de una emulsión, incluso dejándola reposar al aire en un vaso, suele ser mucho más rápido que el enfriamiento de un gran tanque de emulsión. (4)

---

## **7.4 DIFERENTES USOS DE LAS EMULSIONES**

- ☆ **Preparados Farmacéuticos y Cosméticos:** Muchos preparados farmacéuticos y cosméticos tienen como base una pomada, crema o loción, y en ellos son muy importantes los tensoactivos. Por supuesto, son requisitos indispensables de los tensoactivos la falta de toxicidad y de actividad química. Además, los tensoactivos son útiles para emulsionar y solubilizar vitaminas y hormonas. Las emulsiones cosméticas comprenden gran variedad de tipos y de formas. Son emulsiones oleo-acuosas las cremas y lociones faciales, evanescentes, para las manos y para afeitarse. Se pueden formular como emulsiones oleo-acuosas o hidro-oleosas muchas de las cremas más emolientes, como el cerato blanco, la crema contra sequedad del cutis, los preparados para el cabello, las lociones para repeler insectos y las cremas desodorantes contra el sudor. <sup>(4)</sup>
- ☆ **Productos Alimenticios:** Muchas de las sustancias comestibles se hallan en estado de emulsión. Las más conocidas son la leche, la manteca, la mayonesa, aderezos de ensaladas, salsas y helados. Otras emulsiones que se reconocen fácilmente y alimentos en que las emulsiones son parte importante de su producción son las bebidas, los pasteles, dulces, baños de pasteles preparados para condimentos, mantecas de pastelería, margarina, encurtidos, saborizantes, levaduras y huevos. <sup>(4)</sup>
- ☆ **Productos Agrícolas:** Se emplean en forma de emulsiones los insecticidas, herbicidas y fungicidas. Uno de los tipos principales de formulaciones de emulsiones insecticidas comprenden los concentrados emulsionables de disolvente y sustancia tóxica. El tóxico-químico como el DDT o productos análogos o algún fosfato orgánico se disuelve en un disolvente barato y se agrega un tensoactivo soluble en cantidad bastante para que se pueda dispersar fácilmente en agua con agitación moderada. <sup>(4)</sup>
-

☆ **Sustancias Químicas Sanitarias y Pulimentos:** Los desodorantes se suministran con frecuencia en forma de emulsión. Los detergentes para las manos deben ser formulados con disolventes emulsionados además del jabón líquido usual. Los limpiadores industriales para maquinaria se componen a menudo de un disolvente poco emulsionado y agua. En algunos pulimentos de metales y para automóviles se combinan la cera, el abrasivo y el disolvente en forma de emulsión. Con frecuencia es difícil obtener buena estabilidad en esta clase de emulsiones. (4)

☆ **Emulsiones Industriales:** Gran número de ceras y aceites se emulsionan para aplicación a textiles, al cuero, para preparar aceites de corte, acabados de papel y lubricantes. Los tensoactivos se usan en lubricantes marinos, electrolitos para baterías, fundentes para soldadura, tintas de imprenta, y líquidos embalsamadores. Hay pinturas y lacas emulsionadas para diversas aplicaciones.

## 7.5 INFORMACIÓN GENERAL DEL PRINCIPIO ACTIVO

Contiene no menos del 98.0 % y no más del 102.0 % de  $C_{22}H_{17}ClN_2$  calculado sobre base seca. (5)

### 7.5.1 NOMBRE QUÍMICO

1 - ( ( 2 - clorofenil ) difenilmetil ) 1 H - imidazol (5)

Formula condensada	Peso molecular	Punto de fusión
$C_{22}H_{17}ClN_2$	344.84 g/mol	147- 149 °C

### 7.5.2 ESTRUCTURA QUÍMICA<sup>(5)</sup>

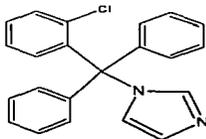


Fig. No. 3. Estructura química del principio activo.

### 7.5.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Polvo cristalino, blanco o amarillo claro.<sup>(5)</sup>

### 7.5.4 SOLUBILIDAD

Soluble en etanol, cloruro de metileno, acetona, cloroformo, acetato de etilo y dimetilformamida. Ligeramente soluble en agua, éter, benceno y tolueno.<sup>(5)</sup>

### 7.5.5 SUSTANCIA RELACIONADA<sup>(13)</sup>

**Nombre químico:** (2 - clorofenil) difenilmetanol; 2- clorotritanol

**Fórmula condensada:** C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O

**PM :** 226 g / mol

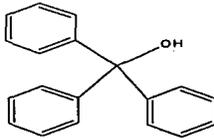


Fig. No. 4. Estructura química de la sustancia relacionada

## 7.6 FARMACOLOGÍA DEL PRINCIPIO ACTIVO

### 7.6.1 INDICACIONES TERAPÉUTICAS

Antimicótico de amplio espectro, con acción fungicida de aplicación cutánea. Recomendado en infecciones vaginales por especies de *Candida* (*Candida albicans*), *Trichomonas vaginalis*, colpitis por levaduras y/o tricomonas, en caso de pacientes con balanitis y vagina seca. (4)

### 7.6.2 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA

Bajo condiciones de prueba la concentración inhibitoria mínima (CIM) para dermatofitos, levaduras y mohos. Se encuentra en los niveles de 0.06424 mg/L; el tipo de acción es primeramente fungistático, aunque en el caso de dermatofitos y *Candida* aparecen efectos fungicidas a partir de concentraciones de 10 –20 mg/L. Además muestra propiedades antibacterianas contra cocos Gram positivos y corinebacterias con valores de concentraciones inhibitorias medias de 0.5 – 1.0 mg/L. (4)

Pruebas realizadas con la administración local del principio activo mostraron que penetra bien en diversas capas de la piel. La capacidad de penetraciones tan buena que a las 6 horas de la aplicación de los valores de CIM encontrados *in vitro* para los hongos más importantes el dermatomicosis son alcanzados en las capas más bajas de la dermis. En cuanto a absorción no se pudo comprobar cantidades activas medibles en plasma, por lo tanto no debe contarse con un efecto sistémico con la aplicación local. (4)

### **7.6.3 CONTRAINDICACIONES**

Salvo una posible hipersensibilidad al principio activo no hay contraindicación. (4)

### **7.6.4 PRECAUCIONES EN EL EMBARAZO Y LACTANCIA**

Puede aplicarse durante el embarazo y la lactancia. En el embarazo deberá aplicarse de preferencia comprimidos vaginales o la crema sin el aplicador. (4)

### **7.6.5 REACCIONES SECUNDARIAS Y ADVERSAS**

Puede llegar a presentarse ligeras manifestaciones de irritación local. (4)

### **7.6.6 INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS**

No se han reportado interacciones con medicamentos o alimentos. (4)

### **7.6.7 DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN**

Administración: vaginal y tópica.

El tratamiento dura 3 días únicamente, aplicando diario lo más profundo posible en la vagina el contenido (5 g) del aplicador lleno. Se recomienda efectuar la aplicación de preferencia en la noche antes de acostarse. (4)

## 7.7 INFORMACIÓN SOBRE LOS PADECIMIENTOS

### VULVOVAGINITIS

Comprende todo proceso inflamatorio que afecta a la vulva y/o vagina acompañada, generalmente, de secreción vaginal. Más del 90% de ellas tienen como factores etiológicos a uno o varios de los tres agentes siguientes: *Gardnerella vaginalis* (40-50%); *Candida sp* (20-25%) y *Trichomona vaginalis* (15-20%). El 10% restante incluyen entidades poco definidas, como la vaginitis atrófica, las vaginitis por cuerpo extraño, las vaginitis alérgicas, etc. (7)

La clínica es tan característica que el diagnóstico es inmediato la mayoría de las veces.

Tabla No. 1. Padecimientos tratados con principio activo causados por microorganismos.

	<b>Clínica</b>	<b>Tratamiento (Antimicóticos)</b>
<i>Candida albicans</i>	Prurito intenso y leucorrea blanca, grumosa. Factores predisponentes.	Clotrimazol, Fluconazol, Ketoconazol, Nistatina, Miconazol, Tioconazol, Ác. Bórico, Violeta de Genciana, etc.
<i>Trichomona vaginalis</i>	Leucorrea verde amarillenta y espumosa. Enrojecimiento y hemorragias puntiformes.	Clotrimazol Metronidazol Tinidazol

### **CANDIDIASIS**

Se llama así, a las frecuentes infecciones por hongos, producidas por *Candida albicans*. Se calcula que un 75% de las mujeres con actividad sexual serán afectadas cuando menos una vez en su vida y un 10 % se harán recurrentes cada mes y dará síntomas crónicos. Puede haber condiciones predisponentes como son embarazo, diabetes no controlada, uso de antibióticos o uso de anticonceptivos hormonales y dispositivos intrauterinos (DIU). Los síntomas frecuentemente se inician una semana antes o durante la menstruación. El flujo en esta infección es espeso, blanco con apariencia de "requesón". Esta infección no se puede considerar una enfermedad de transmisión sexual, estrictamente hablando. Se puede adquirir además del coito, en toallas, ropa, agua de baño o malos hábitos higiénicos. Es más frecuente en mujeres en edad fértil o con tratamientos hormonales y es raro en niñas o después de la menopausia.<sup>(7)</sup>

### **TRICOMONIASIS**

Es causada por un microorganismo microscópico llamado *Trichomona vaginalis*. Se calcula que aproximadamente 20% de todas las mujeres la tienen. También hasta un 10% de los hombres pueden ser portadores. La principal forma de transmisión es por contacto sexual, sin embargo algunos estudios sugieren una transmisión a través de contacto en baños, con toallas, trajes de baño y albercas contaminadas.

Las manifestaciones más comunes de la vaginitis tricomoniasis es el flujo de mal olor, comezón en la vulva y molestias al orinar. Aunque hay mujeres que pueden no presentar ningún síntoma son capaces de infectar a su pareja.<sup>(7)</sup>

## 7.8 ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACCELERADA

Los estudios de estabilidad acelerada están diseñados con el fin de verificar la estabilidad física y química de un medicamento empleando condiciones extremas de almacenamiento en su empaque primario definitivo. Estos estudios tienen como objeto determinar los parámetros cinéticos de los procesos de degradación y/o predecir el período de validez del medicamento, en condiciones reales o naturales de almacenamiento. Los resultados de estudios de estabilidad acelerada deben ser sustentados por los estudios de estabilidad efectuados en las condiciones naturales o reales de almacenamiento. Los resultados de estudios acelerados de estabilidad casi nunca permiten predecir la evolución de los cambios físicos en el producto bajo condiciones naturales de almacenamiento.<sup>(\*)</sup>

Los lotes utilizados para los estudios de estabilidad acelerada deberán ser representativos del proceso de fabricación, tanto del piloto como de la escala industrial. Cuando fuese posible, los lotes deben ser fabricados con números de lotes diferentes de principios activos.<sup>(\*)</sup>

Deben constar en el registro del estudio, todos los detalles sobre el lote, a saber :

Tabla No. 2. Información de los lotes piloto fabricados.

Número de lote	Fecha de Fabricación
Tamaño del lote	Tipo de Material de Acondicionamiento
Condiciones de Almacenamiento	Número de Muestras examinadas por lote
Resultado de los Ensayos	Número de Muestras analizadas por período.

El estudio de estabilidad debe estar basado variando los grados de :

Temperatura / Tiempo / Humedad Relativa  
Intensidad de luz / Presión parcial de vapor

Para algunas formas farmacéuticas, cuyas características necesiten o exijan, como un líquido o un semisólido, debe también considerarse las siguientes temperaturas:

- o por debajo de cero (-10°C a -20°C)
- o ciclos de congelamiento y descongelamiento
- o temperaturas entre 2°C a 8°C de heladera

Durante la etapa de desarrollo del producto y como base para un procedimiento de registro del mismo, la frecuencia de los ensayos debe ser:

Para los Estudios acelerados: 0, 1, 2, 3 y cuando corresponda 6 meses

En los casos de un monitoreo continuo, los lotes pueden ser ensayados cada año, siempre que no hayan sido introducidas modificaciones. (8)

## **7.9 MÉTODOS ANALÍTICOS**

Se debe adoptar un procedimiento sistemático en la presentación y evaluación de la estabilidad. Se deben incluir ensayos de evaluación de características físicas, químicas y biológicas. Se deben evaluar todos los parámetros que tengan posibilidad de ser afectados por el estudio de estabilidad, tales como:

Valoraciones, ensayos para productos de descomposición, todos los ensayos fisicoquímicos que permitan evaluar de manera efectiva la forma farmacéutica en estudio. (9)

Los métodos analíticos de valoración deben ser validados adicionando las desviaciones estándar y los coeficientes de variación, además de que el método analítico debe ser indicador de estabilidad. Los ensayos para determinar compuestos relacionados a productos de descomposición deben ser validados y deben ser sensibles y específicos. Se deben realizar ensayos para probar la eficacia de sustancias tales como los agentes antimicrobianos, para conocer si garantizan la eficacia hasta su fecha de vencimiento. (9)

## **7.10 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**

La validación de un método analítico constituye parte del sistema de calidad.

En cuanto a la calidad de los medicamentos, es de suma importancia verificar la metodología empleada para el control del proceso y producto, así como el análisis rutinario de las formas farmacéuticas, lo cual se logra con el proceso de validación.

La validación de los métodos analíticos se define como la evidencia documentada por los estudios de laboratorio, de que las características del comportamiento del método, satisfacen los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. (9)

La validación de un método analítico incluye efectuar pruebas para:

- **Sistema:** Se evalúa la linealidad y precisión, mediante una solución patrón de la sustancia por analizar.
- **Método:** Se evalúa la especificidad, linealidad, exactitud, precisión y estabilidad de la muestra analítica mediante placebos adicionados.

Los parámetros de validación se pueden clasificar dependiendo de las características que evalúan el comportamiento del método:

1. Parámetros que evalúan la adecuabilidad del sistema: Especificidad y Linealidad.
2. Parámetros que evalúan la efectividad del proceso de preparación de la muestra: Exactitud.
3. Parámetros que incluyen aspectos relacionados con el sistema, con el proceso de preparación de la muestra y con el analista: Precisión

## **DEFINICIONES DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN (9)**

### **◆ ESPECIFICIDAD**

Método indicador de control de calidad:

Definición:

Es la capacidad de un método para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés y no a otros componentes de la muestra presentes en la formulación.

Determinación:

- Analizar placebos del producto que contengan todos los componentes de la formulación excepto el principio activo que se analiza.
- Identificar la respuesta del principio activo y si se procede de los excipientes o componentes del vehículo.

Método indicador de estabilidad

Definición:

Es la capacidad del método analítico para obtener una respuesta exclusiva de la sustancia de interés y no de las sustancias relacionadas o productos de degradación.

Determinación:

- Realizar un análisis inicial de los lotes del activo, del placebo y del producto terminado que se van a someter a degradación. Todos los análisis se realizan por triplicado y cada uno de ellos se analizan dos veces.
- El producto debe someterse a condiciones extremas en su empaque original.

## ◆ LINEALIDAD

### Definición:

Es la capacidad de un método que permite asegurar que los resultados analíticos obtenidos directamente, o bien, mediante una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo.

### Determinación:

Cuando se trabaja con el sistema se analizan soluciones que contienen únicamente al analito y en el caso de trabajar con el método se utilizan placebos adicionados.

Se determina construyendo una curva de calibración utilizando como mínimo 5 concentraciones diferentes que abarquen del 50 al 150% incluyendo el 100% del principio activo, haciendo el análisis por triplicado para cada dilución.

La linealidad se expresa generalmente en términos de la varianza alrededor de la pendiente de la recta ajustada (línea de regresión) calculada a través del método de mínimos cuadrados. La relación matemática que describe la ecuación de la recta es la siguiente:

$$y = mx + b$$

### Calcular:

Pendiente de la recta ( m )

Ordenada al origen ( b )

Coefficiente de correlación ( r )

Coefficiente de determinación ( r<sup>2</sup> )

## **✿ PRECISIÓN**

### **Definición:**

Es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales, cuando el método se aplica repetidamente a diferentes muestras de una población homogénea de un producto. Se expresa en términos de desviación estándar o de coeficiente de variación. Es una medida del grado de repetibilidad y reproducibilidad el método analítico bajo condiciones normales de operación. La precisión se evalúa como:

### **A) Repetibilidad:**

#### **Definición:**

Evalúa la precisión y se expresa como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes de una misma preparación, realizadas bajo las mismas condiciones experimentales: (analista, tiempo, aparato, laboratorio, etc.)

#### **Determinación:**

El análisis se realiza por sextuplicado de una misma preparación correspondiente a 100% del principio activo.

#### **Calcular:**

Coefficientes de Variación totales (CV<sub>T</sub>)

### **B) Reproducibilidad:**

#### **Definición:**

Evalúa la precisión del método analítico y manifiesta la concordancia entre determinaciones independientes de una muestra homogénea analizada bajo diferentes condiciones experimentales (analista y tiempo)

**Determinación:**

Se realizan determinaciones en placebos adicionados al 100% del principio activo en forma independiente y por triplicado para cada analista y en cada día la muestra por duplicado.

**Calcular:**

Coefficientes de Variación totales ( CV<sub>t</sub> )

Los resultados de reproducibilidad se someten a un rearrreglo factorial de dos factores o niveles y a un tratamiento de análisis de varianza, donde se generan las F correspondientes a cada fuente de variación. ( analistas y días).

## **EXACTITUD**

**Definición:**

Es la concordancia entre el valor promedio obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el % de recobro obtenidos del análisis de muestras al 100% del principio activo.

**Determinación:**

El análisis se realiza en 6 placebos adicionados de la manera independiente al 100% del principio activo, en las mismas condiciones de operación y por el mismo analista. Cada analista inyecta por duplicado.

**Calcular:**

La exactitud se evalúa por medio de la prueba estadística t Student y el cálculo del intervalo de confianza para la media del coeficiente de variación para el % de recobro(%, °)

## **8. METODOLOGÍA**

### **8.1 MATERIAL**

- Probeta de 50 ml graduada
- Soporte universal con anillo metálico
- Embudo de aluminio
- Vernier
- Cronómetro
- Tela de fibra
- Caja Petri
- Tamices de acero inoxidable no. 30, 40, 60, 80, 100, 140, 200, base y tapa
- Vasos de precipitado de 1L, 600,250,150,100 y 50 mL
- Frascos viales transparentes
- Espátula
- Cubreobjetos
- Agitador de vidrio
- Termómetro
- Microjeringa
- Bureta de 25mL
- Acrodiscos
- Embudo de plástico
- Pipetas volumétricas de 3, 4, 5, 6 y 7mL
- Propipeta
- Tubos de ensaye
- Pipetas graduadas
- Matraces volumétricos de 10, 25, 50 y 100 mL
- Capilares
- Cámara cromatográfica de elusión

## **8.2 EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

- Cámaras climáticas HOT - PACK
- Estufa Thelco 10-W-12
- Ro-Tap, Erweka
- Microscopio óptico
- Parrilla de calentamiento y agitación Thermolyne
- Medidor de punto de fusión : Fisher-Johns
- Balanza analítica: Sartorius
- Balanza semianalítica; Sartorius
- Potenciómetro Corning 136
- Espectrofotómetro de UV- Vis HP 8453 - A
- Espectrofotómetro de IR SHIMADZU
- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución WATERS MILLENIUM - 32

## **8.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS**

- Aceite mineral USP
- Acetonitrilo RA
- Ácido acético glacial y 1N
- Ácido sulfúrico 1M
- Ácido clorhídrico 6N, 1N y 0.1N
- Ácido ortofosfórico 0,02M
- Ácido perclórico 0.1M
- Agua desmineralizada USP
- Alcohol bencílico USP
- Alcohol isopropílico USP
- Cloroformo RA
- Principio activo Sref USP
- (2-clorofenil)difenilmetanol Sref USP
- Etanol absoluto RA
- Etanol al 96% RA
- Fosfato monobásico de sodio RA
- Glicerina USP
- Hidróxido de amonio RA
- Hidróxido de sodio 6N y 1N
- Metanol RA
- Metanol HPLC TECSIQUIM
- Miristato de isopropilo RA
- Peróxido de hidrógeno al 35% RA
- Polietilenglicol 400 USP
- Propanol RA
- Propilenglicol USP
- Sorbitol al 70 %USP
- Sulfato de sodio anhidro USP
- Tolueno RA
- Xileno RA

## **8.4 ANÁLISIS DEL PRINCIPIO ACTIVO**

### **8.4.1 DESCRIPCIÓN**

Descripción visual del principio activo enlistando: color, forma, olor, etc.; ser explícito.

### **8.4.2 PUNTO DE FUSIÓN**

Realizar esta prueba utilizando el aparato Fisher- Johns; colocando una muestra pequeña del material a estudiar sobre un cubreobjetos, colocar este en el aparato, comenzar incrementando la temperatura, ajustar la perilla a una velocidad lenta de calentamiento; indicar el intervalo de fusión de la muestra, realizar la prueba por triplicado. Confrontar el resultado con lo reportado en la bibliografía.

### **8.4.3 SOLUBILIDAD**

Colocar 100 mg de la muestra en tubos de ensayo de 15 ml, adicionar poco a poco y con agitación continua, en porciones de 0.5 ml los disolventes seleccionados.

### **8.4.4 CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS**

#### **8.4.4.1 DENSIDAD APARENTE**

Pasar la probeta vacía en la balanza (P1). Vaciar dentro de la probeta el material a examinar hasta un volumen aproximado de 20 mL; registrar el volumen exacto (V). Pesar la probeta con material en la balanza (P2). Determinar la densidad aparente por la siguiente fórmula:

$$da = \frac{P2 - P1}{V}$$

#### 8.4.4.2 DENSIDAD COMPACTADA

Tapar la probeta anterior. Sostener la probeta con el polvo a una altura de 3 cm de la superficie de la mesa; dejarla caer 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 y 200 veces; determinando el volumen cada 25 veces hasta que permanezca constante. Registrar los datos.

Determinar la densidad compactada utilizando la siguiente fórmula:

$$dc = \frac{P2 - P1}{Vcte}$$

#### 8.4.4.3 ÍNDICE DE CARR (% DE COMPRESIBILIDAD)

Tomar los valores de densidad aparente y compactada y determinar el % de Compresibilidad por la siguiente fórmula:

$$\%C = \frac{dc - da}{dc} * 100$$

Comparar el resultado obtenido con el siguiente criterio:

---

Tabla No. 3. Criterio de compresibilidad

% Compresibilidad	Flujo y compresibilidad
5 - 15	Excelente
12 - 16	Bueno
*18 - 21	Regular
*23 - 25	Pobre
33 - 38	Muy pobre
< 40	Pésimo

\*Podría mejorar por la adición de un deslizante.

#### 8.4.4.4 ÍNDICE DE HAUSNER

Tomar los valores de  $d_a$  y  $d_c$ ; y calcular el IH:

$$IH = \frac{d_c}{d_a}$$

#### 8.4.4.5 VELOCIDAD DE FLUJO

Colocar el embudo en el soporte universal con la ayuda del anillo metálico aproximadamente a 7 cm de altura de la base de la mesa. Colocar la caja Petri invertida, centrada debajo de embudo. Colocar un trozo de tela de fibra tapando la salida del embudo. Transferir aproximadamente 20 g de material ( g ) dentro del embudo. Retirar la tela y simultáneamente con un cronómetro tomar el tiempo del flujo del material en segundos ( t ). Detener el cronómetro cuando todo el material haya pasado a través del tubo. Determinar la velocidad de flujo; realizar la prueba por triplicado. Determinar la velocidad reflujo por medio de la siguiente fórmula:

$$Vf = \frac{g}{t}$$

#### 8.4.4.6 ÁNGULO DE REPOSO

Medir la altura (  $h$  ) del montón de material del punto anterior en centímetros.  
Medir el radio (  $r$  ) de la circunferencia ocupada por el material en centímetros.  
Realizar la prueba por triplicado. Calcular el ángulo de reposo:

$$\theta = \tan^{-1} \frac{h}{r}$$

Comparar el resultado obtenido con el criterio siguiente:

Tabla No. 4. Criterio de ángulo de reposo

0	Flujo
< 25	Excelente
25 - 30	Buena
*30 - 40	Regular
> 40	Muy pobre

\*Podría mejorar por la adición de un deslizante

#### **8.4.4.7 DISTRIBUCIÓN DE PARTÍCULA**

Pesar los tamices y el plato por separado, registrar los pesos iniciales (P<sub>i</sub>). Armar el equipo Ro-Tap en el orden siguiente: plato, 200, 140, 100, 80, 60, 40 y 30. Pesar 20 g de la muestra (m) en estudio y colocarla sobre la malla 30. Colocar la tapa sobre la pila, asegurarse de que los tornillos estén bien colocados y accionar el interruptor para sacudir por 15 min. Al término de sacudir separar y pesar individualmente los tamices (P<sub>f</sub>) para determinar la cantidad de polvo retenido sobre los tamices por diferencia de peso. Utilizar la siguiente fórmula:

$$\% \text{Retenido} = \frac{P_f - P_i}{m} * 100$$

### **8.5 ESTUDIOS DE PREFORMULACIÓN**

#### **8.5.1 ESTABILIDAD EN ESTADO SÓLIDO**

Colocar en frascos transparentes previamente identificados (nombre del producto, fecha de inicio, condición y responsable del producto) 50 mg aproximadamente de muestra y someterlo a las siguientes condiciones:

Luz solar  
Temperatura (65°C)

#### **8.5.2 DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Colocar en frasco transparentes aproximadamente 50 mg de muestra, adicionar a cada frasco 0.5 ml de las siguientes soluciones:

- NaOH 6N
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%
- Agua desmineralizada
- HCl 6N

Colocar cada uno de los frascos en la estufa a 65°C y a temperatura ambiente debidamente etiquetados e identificados.

Tomar una muestra de cada uno de los frascos tanto de estudio en estado sólido como del degradación y proceder a analizarlo por CCF. Realizar el análisis regularmente cada tercer día comparando contra una referencia preparada al momento del análisis.

### **8.5.3 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES**

Colocar en frasco transparentes aproximadamente 50 mg del producto en estudio y el excipiente en la proporción correspondiente. Colocar la mezcla en la estufa a 65°C.

Realizar el análisis por CCF utilizando las mismas condiciones de elución y revelado que se utilizaron en la prueba anterior. Muestrear cada 2 días, comparando contra una referencia del principio activo. Observar y reportar cualquier cambio físico.<sup>(14)</sup>

**LOS EXCIPIENTES UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO SON:**

**Agentes emulsificantes**

Alcohol esteárico  
Alcohol cetílico  
Ácido esteárico  
Petrolato blanco

**Agentes viscosantes**

Goma Xantana  
Carboximetilcelulosa sódica  
Veegum HV

**Cosolventes**

Glicerina  
Aceite mineral  
Miristato de isopropilo  
Propilenglicol  
Polietilenglicol

**Agentes conservadores**

Metilparabeno  
Propilparabeno  
Ácido benzoico  
Alcohol bencílico  
Benzoato de sodio  
Imidazolidin urea

**Agentes amortiguadores de pH  
(acidificantes / alcalinizantes)**

Ácido cítrico  
Citrato de sodio  
Trietanolamina

**Agentes tensoactivos**

Tween 80  
Tween 60  
Span 60  
Laurilsulfato de sodio

**Agente Opalescente**

Dióxido de titanio

## **8.6 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL PRINCIPIO ACTIVO**

### **8.6.1 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN (10, 11, 12, 13)**

- a) Examen por espectroscopía infrarroja y comparar con el espectro obtenido con el estándar del principio activo.
- b) Examinar con luz ultravioleta 254 nm los cromatogramas obtenidos en la identificación de la sustancia relacionada. La mancha principal en el cromatograma con la solución problema es similar en su posición y tamaño a la mancha principal del cromatograma obtenido con la solución de referencia. (obtener los cromatogramas de la identificación de los productos de degradación).
- c) Identificación de los productos de degradación:

(2- clorofenil) difenilmetanol

Identificación de la sustancia relacionada:

Solución A: Disolver 0.5 g de la sustancia de referencia a examinar en 5 ml de etanol R.

Solución B: Diluir 1 ml de la sol A en 10 ml de etanol R.

Solución de referencia A: Disolver 50 mg de principio activo CRS en 5 ml de etanol R.

Solución de referencia B: Disolver 10 mg de sustancia relacionada CRS en 5 ml de etanol R.

Aplicar por separado 10  $\mu$ L de cada uno de las soluciones. Colocar en una cámara de cromatografía la placa, con una muestra de tolueno, propanol e hidróxido de amonio en proporciones de (90:10:0.5) Dejar secar la placa al aire. Rocíar la placa con solución de ácido sulfúrico en etanol (10% v/v). Una de las manchas corresponde a la sustancia relacionada en la placa de la solución A, esta debe de ser menos intensa que la mancha de la placa obtenida con la solución de referencia B.

---

## **8.6.2 VALORACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Disolver 0.300g de principio activo en 80 mL de ácido acético glacial, con 0.3 mL de fenolftaleína como indicador, titular con ácido perclórico 0.1 M: hasta el cambio de color de café-amarillo a verde.

Nota: 1 ml de ácido perclórico 0.1M equivale a 34.48 mg de principio activo.

## **8.7 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN**

Realizar una fórmula inicial tomando en cuenta los valores descritos en la bibliografía y partir de esta para obtener el producto deseado moviendo según una matriz los porcentajes a variar de los agentes generales para la formulación de una emulsión semisólida.

Determinando a su vez un procedimiento de fabricación fácil y sencillo para la elaboración de ésta.

## **8.8 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL PRODUCTO TERMINADO**

La crema de Principio activo contiene no menos del 95.0 % y no más del 105.0 % de  $C_{22}H_{17}ClN_2$

### **8.8.1 ENSAYO DE IDENTIDAD**

#### **8.81.1 POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF)**

Utilizando una placa de sílica gel y una fase móvil contenida en una cámara cromatográfica de 25mL una mezcla de tolueno:propanol:hidróxido de amonio

(90:10:0,5). Aplicar por separado a la cromatoplaqa 10  $\mu$ L de cada una de las siguientes soluciones:

Solución 1: Agitar una cantidad de crema equivalente a 20 mg de principio activo con 4 mL de etanol absoluto 30 min. centrifugar y separa el sobrenadante. Aplicar el sobrenadante.

Solución 2: Hacer una mezcla del 0.5 % de principio activo en etanol absoluto. Aplicar cada una de estas soluciones.

Colocar la placa en la cámara cromatográfica. Dejar eluir 3 cuartas partes de la placa. Remover la placa, permitir que se seque al aire y revelar con luz UV y en cámara de yodo. Las manchas obtenidas en la cromatoplaqa con la solución 1 son de color café y deben corresponder a las manchas de la solución 2.

### **8.8.1.2 PH APARENTE**

Pesar en un vaso de precipitado 1g de crema, adicionar 10 mL de agua y disolver la crema, utilizando un agitador de vidrio. Introducir el electrodo dentro de la mezcla y tomar la lectura. Esta lectura de pH es indirecta.

## **8.9 VALORACIÓN DEL PRODUCTO TERMINADO**

Por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)

Solución estándar: Transferir 20 mg de principio activo Sref a un matraz volumétrico de 100 mL adicionar 70mL de metanol y disolver. Aforar con ácido ortofosfórico 0.02M. Transferir 5 mL de la solución resultante a un matraz volumétrico de 50mL y aforar con fase móvil. Filtra a través de acrodiscos de 0.45 m a viales e inyectar al cromatógrafo. Esta solución tiene una concentración de 20 $\mu$ g/mL aproximadamente.

Solución estándar de la sustancia relacionada: Preparar una solución 0.0002% m/v en una mezcla de ácido ortofosfórico 0.02M : metanol (30:70)

Solución de la muestra: Pesar una cantidad de crema equivalente a 20mg de principio activo (aproximadamente 1g) en un matraz volumétrico de 100mL, adicionar 30mL de metanol, calentar hasta disolución total, adicionar 40mL de metanol, someter a baño de ultrasonido por 10 min., dejar enfriar. Aforar con ácido ortofosfórico 0.02M, mezclar. Filtrar la solución por filtros Whatman no. 41, desechar los primeros mililitros. Del filtrado transferir 5 mL a un matraz de 50 mL, aforar con fase móvil. Pasar la muestra a través de acrodiscos de 0.45  $\mu\text{m}$  a viales. Esta solución tiene una concentración aproximada de 20  $\mu\text{g}$  / mL.

Solución de la muestra para la sustancia relacionada: Pesar el equivalente a 20mg de principio activo (1g de crema) y extraer con 20mL de metanol, calentar a baño maría a 50°C por 5 min. con agitación ocasional, sacar del baño, agitar la mezcla vigorosamente mientras se enfría a temperatura ambiente, enfriar con hielo por 15 min., centrifugar por 5 min. y decantar el sobrenadante. Repetir la extracción con 2 volúmenes más de metanol (20mL). Recolectar los extractos en un matraz volumétrico de 100mL; adicionar 10mL más de metanol y aforar con ácido ortofosfórico 0.02M. Mezclar. Enfriar en hielo, filtrar por papel filtro Whatman no. 41; desechar los primeros mililitros Transferir una alícuota de 5mL de esta solución a un matraz volumétrico de 25mL y aforar con fase móvil.

Procedimiento:

Inyectar por separado volúmenes iguales de ambas soluciones, desarrollar los cromatogramas y medir las respuestas, calcular el % de principio activo en las muestras tomadas por medio de la siguiente fórmula:

$$(R_m / R_{ref}) (C_{ref} / C_m) (100)$$

Donde:

$R_m / R_{ref}$ : Áreas de los picos respuesta de la muestra y de la referencia respectivamente.

$C_{ref} / C_m$ : Las concentraciones en  $\mu\text{g}$  / mL de la referencia y de la muestra.

El área de cualquier pico correspondiente al tiempo de retención de la sustancia relacionada en el cromatograma debe ser menor que el área de la solución estándar de la sustancia relacionada.

Sistema cromatográfico:

Detector:	UV
Columna:	X Terra C18 150 x4,6 mm
Velocidad de flujo:	1,3 mL/ min.
Longitud de onda:	215 nm
Tiempo de corrida:	7min.
Fase móvil:	Solución de metanol: fosfato monobásico de sodio (80 : 20), pH = 6,8.

## **8.10 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO**

### **8.10.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA**

Construir una curva de calibración de la respuesta del equipo contra la cantidad adicionada de principio activo, a los niveles 60, 80, 100, 120 y 140%, partiendo de una solución patrón, de la siguiente forma:

Pesar con exactitud aproximadamente 200 mg de principio activo SRef y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 50 mL de fase móvil, someter a baño de ultrasonido durante 10 minutos, dejar enfriar. Llevar al aforo con fase móvil (solución patrón de 1500µg/mL). Transferir el volumen de alícuota de acuerdo con la siguiente tabla y llevar a 50 mL con fase móvil. Filtrar a través de acrodiscos de 0,45µm e inyectar:

Tabla No 5. Linealidad del sistema.

Nivel %	Vol. Alícuoto mL	Concentración $\mu\text{g/mL}$ de Clotrimazol	No. Replicas
60	3	90	3
80	4	120	3
100	5	150	6
120	6	180	3
140	7	210	3

Leer todas las muestras a 254 nm. Registrar los resultados y calcular los valores de m, b,  $m_r$ ,  $b_r$ , r y  $r^2$ .

### 8.10.2 PRECISIÓN DEL SISTEMA

Tomar los resultados obtenidos con el nivel al 100 % de la linealidad del sistema y calcular los valores de  $\bar{x}$ , y el C.V.

### 8.10.3 LINEALIDAD DEL MÉTODO

Construir una curva de calibración de cantidad recuperada contra cantidad adicionada de principio activo, a los niveles 0, 60, 80, 90, 100, 120 y 140%, mediante el método de adición de Sustancia de Referencia a placebo, de la siguiente manera:

Transferir 980 mg de placebo a un matraz volumétrico de 100 mL para cada muestra, adicionar la cantidad especificada de principio activo SRef de acuerdo con la siguiente tabla; adicionar 10 mL de metanol y calentar agitando continuamente hasta completa disolución de la crema, adicionar 50mL de fase móvil, someter a baño de ultrasonido por 10 min, dejar enfriar, aforar con fase móvil y mezclar. Filtrar a través de papel filtro Whatman no. 41, desechando los

primeros mililitros del filtrado. Filtrar a través de acrodiscos de 0.45  $\mu\text{m}$ . Leer a una longitud de onda de 215 nm por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).

Tabla No 6. Linealidad del método

Nivel %	mg Adicionados de Clotrimazol	Concentración $\mu\text{g/ml}$ de Clotrimazol
0	---	---
60	12.0	120.0
80	16.0	160.0
100	20.0	200.0
120	24.0	24.0
140	28.0	28.0

Realizar cada nivel por sextuplicado, y si es posible al azar. Calcular los mg recuperados, m, b, r, y  $r^2$ .

### **8.10.4 EXACTITUD Y REPETIBILIDAD**

Emplear los resultados obtenidos en la linealidad del método y determinar el coeficiente de variación del % recuperado para todo el intervalo de concentraciones, excluyendo el 0.

### **8.10.5 ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO**

Determinar el % de respuesta del placebo. Esto se puede realizar de la linealidad del método, tomando en consideración el nivel al 0 %.

## **8.10.6 REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO**

Realizar el análisis como se indica anteriormente, con 2 analistas, en dos días diferentes, por triplicado. Calcular los % recuperados. Calcular el C.V. y realizar el análisis de varianza.

Sistema cromatográfico:

Detector:	UV
Columna:	X Terra C18 150 x4.6 mm
Velocidad de flujo:	1.3 mL/ min.
Longitud de onda:	215 nm
Tiempo de corrida:	7min.
Fase móvil:	Solución de metanol: fosfato monobásico de sodio (80 : 20), pH = 6.8.

Tabla No. 7 Especificaciones de los parámetros de la validación del método analítico.

<b>Parámetros</b>	<b>Especificaciones</b>
<b>Linealidad del sistema</b>	$r^2 > 0.98$ ; $CV < 1.5\%$
<b>Linealidad del método</b>	$m = 1$ ; $b=0$ ; $r^2 > 0.98$ ; $CV < 2.0\%$
<b>Reproducibilidad</b>	$CV_T < 2.0\%$
<b>Precisión</b>	$CV < 1.5\%$
<b>Exactitud y repetibilidad</b>	$CV < 2.0\%$
<b>Especificidad</b>	Sin interferencias

## 9. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 9.1 ANÁLISIS DEL PRINCIPIO ACTIVO

En la tabla 8 se muestran los resultados de las pruebas físicas realizadas al principio activo.

Tabla No 8. Análisis del principio activo.

<b>Prueba</b>	<b>Especificación</b>	<b>Resultado</b>
Descripción	Polvo fino de color blanco, sin partículas extrañas	Polvo fino, de color blanco; sin partículas extrañas
Olor	Inodoro	Inodoro
Observación al microscopio	Cristales de forma irregular.	Cristales de formas irregulares; traslucido a la luz.
Punto de fusión	147 -149°C	144 - 145 °C

Se observa que el principio activo cumple con los requisitos y especificaciones físicas generales; ya que no se observan partículas extrañas y su punto de fusión

---

es muy parecido al reportado en la bibliografía, además tiene un rango de fusión cerrado, el cual nos provee información de la pureza de este.

## 9.2 SOLUBILIDAD

En la tabla no. 9 se observan los resultados de la solubilidad del principio activo en diferentes disolventes a temperatura ambiente.

Tabla No 9. Solubilidad del principio activo.

Solvente	Volumen (mL)	Solubilidad
Alcohol isopropílico	5,0	★
Alcohol bencílico	5,0	★
Glicerina	5,0	★
Aceite mineral	5,0	★
Polietilenglicol	5,0	★
Propilenglicol	5,0	★
Miristato de isopropilo	5,0	★
Etanol absoluto	1,0	★★★
Metanol	0,5	★★★
Cloroformo	0,5	★★★

Solvente	Volumen (mL)	Solubilidad
Acetonitrilo	1,5	***
Agua	5,0	*
Ácido acético 1N	5,0	*
HCl 1N	5,0	*
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N	4,0	*
NaOH 1N	6,0	*

\*\*\* Muy soluble \*\*Poco soluble \* Insoluble

La solubilidad del principio activo es extremadamente alta con etanol absoluto, metanol, cloroformo y acetonitrilo a temperatura ambiente; mientras que en agua, a temperatura ambiente y calentando a 40°C es nula la solubilidad del principio activo.

Mientras que en los disolventes orgánicos la solubilidad se realizaba calentando a temperaturas mayores a 35°C.

La solubilidad del principio activo es similar a la reportada en la bibliografía.

### 9.3 REOLOGÍA DEL PRINCIPIO ACTIVO

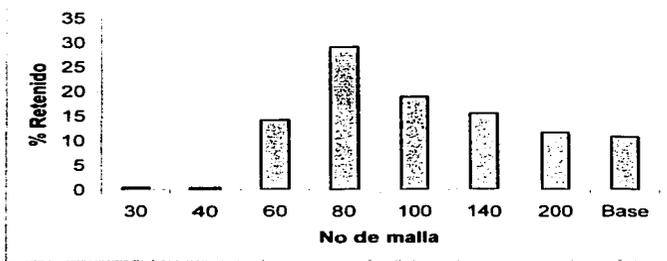
Tabla No. 10. Resultados de la prueba reológica del principio activo.

<b>Determinación</b>	<b>Resultado</b>
Densidad aparente	0.41 g / mL
Densidad compactada	0.61 g / mL
Índice de Hausner	1.49 %
Índice de Carr ( % C)	32.79 %
Velocidad de flujo	No hay flujo
Angulo de reposo	No hay ángulo de reposo

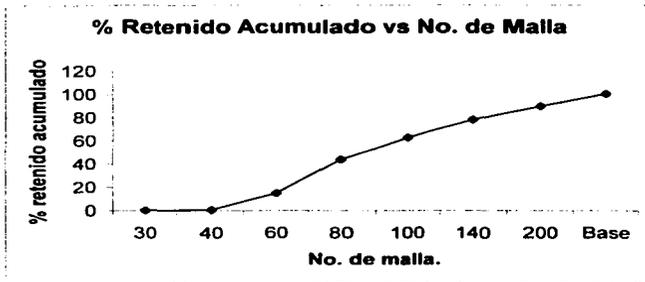
## 9.4 DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

Tabla No. 11. Resultados de la prueba de distribución de partícula.

No. de malla	Cantidad de muestra retenida ( g )	% Retenido
30	0.1	0.43
40	0.1	0.43
60	3.3	14.10
80	6.8	29.06
100	4.4	18.80
140	3.6	15.38
200	2.7	11.54
Base	2.5	10.68



Gráfica No. 1. Distribución del tamaño de partícula.



Gráfica No. 2 % retenido acumulado vs. No de malla.

Se observan unos parámetros reológicos aceptables, éstos se realizaron para tener una caracterización del principio activo completa, lo único más importante

es la distribución del tamaño de partícula; ya que a menor tamaño de partícula es mayor la el área superficial lo que da como resultado mayor solubilidad de éste en los disolventes.

Por lo que se ve un tamaño de partícula aceptable para ser soluble además de que es uniforme.

## **9.5 RESULTADOS DEL ESTUDIO DE PREFOMULACIÓN**

### **9.5.1 ESTABILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Tabla No. 12. Resultados de las pruebas fisicoquímicas del principio activo.

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>	<b>Características físicas del principio activo</b>
Estabilidad del principio activo	Rf = 0.45	Polvo fino de color blanco.
Estabilidad en estado sólido	Rf referencia = 0.45	Polvo fino de color blanco.
	Rf muestra a 65 °C = 0.45	Polvo fino de color blanco.

Se observan Rf similares entre ambas pruebas, a diferentes condiciones de temperatura. Se observa que el principio activo es estable, tanto a temperatura ambiente como a altas temperaturas. Lo que nos ayuda a que se mantenga estable en diferentes climas y que provea su efecto terapéutico.

## 9.5.2 SISTEMA DE ELUCIÓN UTILIZADO

Fase de elución: Tolueno, Propanol, Hidróxido de amonio (90 : 10 : 0.5)

Fase reveladora: Cámara de yodo y luz UV de longitud corta.

## 9.5.3 DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO A DIFERENTES CONDICIONES

En la tabla 13 se observa la degradación del principio activo a diferentes medios: tanto en medio ácido, básico, oxidante y con agua desmineralizada.

Tabla No.13. Resultados de la degradación del principio activo a diferentes condiciones.

Solución	Temperatura ambiente y luz	Características físicas	65°C	Características físicas
Referencia	Rf = 0.45	Polvo fino, color blanco	Rf = 0.45	Polvo fino, color blanco
HCl 6N	origen	Precipitado en solución de tono amarilla	origen	Grumos precipitados, color crema
NaOH 6N	Rf = 0.44	Precipitado en solución de tono blanquizco	Rf = 0.44	Polvo suspendido
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 35%	Rf = 0.44	Polvo en suspensión, no soluble	origen	Grumos amarillos no resuspendibles
Agua desmineralizada	Rf = 0.44	Polvo en suspensión, no soluble	Rf = 0.44	Polvo suspendido

Las muestras de principio activo dan Rf similar al de la referencia, tanto a temperatura ambiente como a 65°C.

Se observa que en medio ácido el principio activo no tiene Rf, lo que se debería a que este no fue soluble en HCl 6N y que además se haya degradado a esta condición. En la misma situación se encuentra en medio oxidante sólo a 65°C.

Donde la aplicación, en ambos casos se quedó en el origen.

En todos los casos el principio activo no se disolvió completamente, pero sí se observan Rf a la misma altura que el de la referencia.

## 9.5.4 COMPATIBILIDAD CON EXCIPIENTES

Resultados de la prueba de compatibilidad con excipientes realizada por Cromatografía en Capa Fina (CCF); con los excipientes generales para una emulsión semisólida (crema); utilizando el sistema de elución determinado en la prueba de estabilidad del principio activo.

### ● AGENTES EMULSIFICANTES

Tabla No. 14. Resultados de compatibilidad con agentes emulsificantes, utilizando la CCF.

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Alcohol esteárico	Mancha definida	0.44	✓
Alcohol cetílico	Mancha definida	0.44	✓

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Ácido esteárico	Mancha definida	0.44	✓
Petrolato Blanco	Mancha definida	0.44	✓

✓ Prueba de compatibilidad positiva; X Prueba de compatibilidad negativa.

● **AGENTES VISCOSANTES**

Tabla No. 15. Resultados de compatibilidad con agentes viscosantes, utilizando la CCF.

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Goma Xantana	Mancha definida	0.44	✓
Carboximetilcelulosa sódica	Mancha definida	0.44	✓
Veegum HV	Mancha definida	0.44	✓

✓ Prueba de compatibilidad positiva; X Prueba de compatibilidad negativa

● **AGENTES COSOLVENTES**

Tabla No. 16. Resultados de compatibilidad con agentes cosolventes, utilizando la CCF.

<b>Excipiente</b>	<b>Característica de la placa</b>	<b>Rf</b>	<b>Resultado</b>
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Glicerina	Mancha definida	0.44	✓
Aceite mineral	Mancha definida	0.44	✓
Miristato de isopropilo	Mancha definida	0.44	✓
Propilenglicol	Mancha definida	0.44	✓
Polietilenglicol	Mancha barrida desde el origen	0.44	X

✓ Prueba de compatibilidad positiva; X Prueba de compatibilidad negativa

● **AGENTES CONSERVADORES**

Tabla No. 17. Resultados de compatibilidad con agentes conservadores, utilizando la CCF.

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Metilparabeno	Mancha adicional superior	0.44	✗
Propilparabeno	Mancha adicional superior	0.44	✗
Ácido benzoico	Mancha barrida desde el origen	0.44	✗
Alcohol bencílico	Mancha adicional superior	0.44	✗
Benzoato de sodio	Mancha adicional en el origen	0.44	✗
Imidazolidinurea	Mancha definida	0.44	✓

✓ Prueba de compatibilidad positiva; ✗ Prueba de compatibilidad negativa

● AGENTES AMORTIGUADORES DE PH (ACIDIFICANTES / ALCALINIZANTES)

Tabla No. 18. Resultados de compatibilidad con agentes amortiguadores de pH, utilizando la CCF.

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Ácido cítrico	Mancha definida	0.44	✓
Citrato de sodio	Mancha definida	0.44	✓
Trietanolamina	Mancha barrida desde el origen	0.44	X

✓ Prueba de compatibilidad positiva; X Prueba de compatibilidad negativa

● AGENTES TENSOACTIVOS

Tabla No. 19. Resultados de compatibilidad con agentes tensoactivos, utilizando la CCF.

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Tween 80	Mancha adicional en el origen	0.44	✓

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Tween 60	Mancha adicional en el origen	0.44	✓
Span 60	Mancha definida	0.44	✓
Laurilsulfato de sodio	Mancha definida	0.44	✓

✓ Prueba de compatibilidad positiva; X Prueba de compatibilidad negativa

● **AGENTE OPALESCENTE**

Tabal No. 20. Resultado de la compatibilidad con el agente opalescente, utilizando la CCF.

Excipiente	Característica de la placa	Rf	Resultado
Referencia de Clotrimazol	Mancha definida	0.45	✓
Dióxido de titanio	Mancha definida	0.44	✓

✓ Prueba de compatibilidad positiva; X Prueba de compatibilidad negativa

Se observa que en el caso de los agentes emulsificantes, los agentes viscosantes y opalescentes todos fueron compatible con el principio activo; mientras que lo agentes cosolventes, conservadores, alcalinizantes y tensoactivos, uno o varios de los que se probaron no son compatible porque dan manchas por encima, por debajo o barridos con respecto a la referencia.

## 9.6 IDENTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

### 9.6.1 ESPECTRO DEL PRINCIPIO ACTIVO EN INFRARROJO

Espectro de infrarrojo del principio activo, donde se observan señales de los grupos funcionales que conforman la molécula del principio activo y ayuda a su identificación.

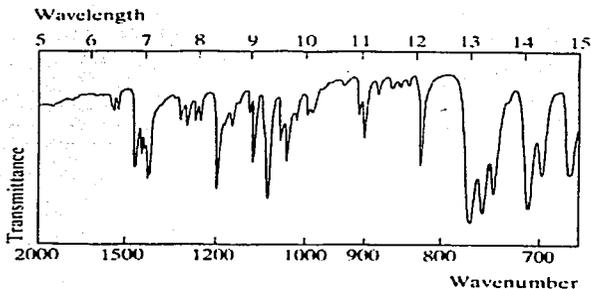


Fig. No. 5. Espectro de IR del principio activo.

### 9.6.2 ESPECTRO DE UV DEL PRINCIPIO ACTIVO

El espectro de UV del principio activo que se muestran a continuación, donde se observan los máximos y mínimos del principio activo que coinciden con los reportados en la bibliografía.

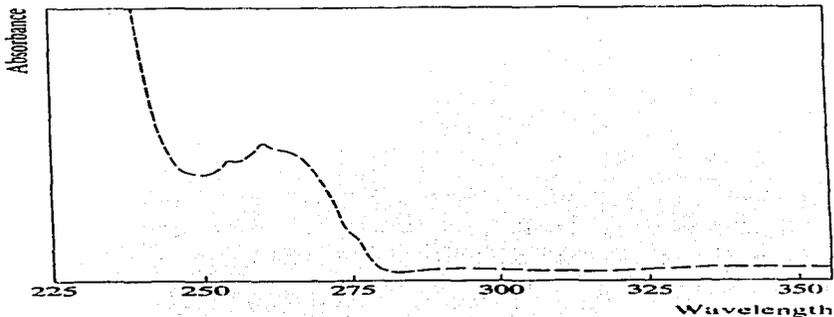


Fig. No. 6. Espectro de UV del principio activo.

### 9.6.3 CROMATOGRAMA DEL PRINCIPIO ACTIVO

Se observa el pico del principio activo y su tiempo de retención, a en estas condiciones cromatográficas es de 5.624min, lo que nos ayudara a reconoce al principio activo de la sustancia relacionada.

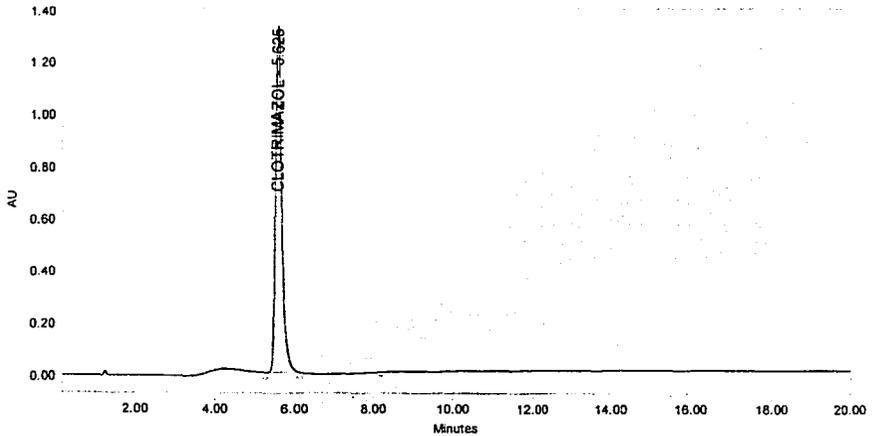


Fig. No. 7 Cromatograma del principio activo.

### 9.6.4 CROMATOGRAMA DE LA SUSTANCIA RELACIONADA DEL PRINCIPIO ACTIVO

Se observa el cromatograma de la sustancia relacionada del principio activo que tiene un tiempo de retención de 5.438 min; lo cual nos ayuda a determinar la posición de esta con respecto al pico del principio activo y poder diferenciarlos, así como cuantificarla y determinar si esta en cantidad considerable en el producto terminado.

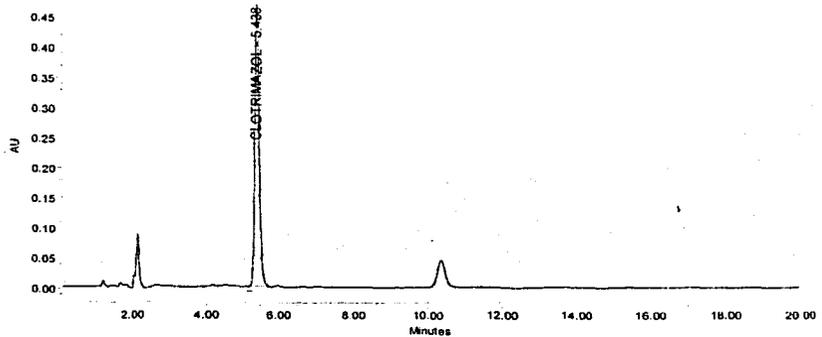


Fig. No. 8. Cromatograma de la sustancia relacionada

Entre los dos cromatogramas presentados se observa una diferencia en los tiempos de retención entre ambos compuestos, lo que trae como consecuencia no poder diferenciar la sustancia relacionada del principio activo; esto se

mejoraría si se utiliza una columna de mayor longitud, para que se separen con mayor facilidad ambos compuestos.

### **9.6.5 VALORACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Se obtuvieron los siguientes volúmenes de ácido perclórico en la valoración del principio activo:

Tabla No. 21. Resultados de la valoración volumétrica del principio activo.

Prueba	Cantidad de principio activo (mg)	Volumen de ácido perclórico 0.1N (mL)	Porcentaje de principio activo valorado
Blanco	-----	0.1	-----
Muestra no.1	369.8	10.7	98.83
Muestra no.2	351.0	10.2	99.20
Muestra no.3	358.3	10.4	99.13

Se observa que se obtiene un porcentaje promedio de principio activo dentro de los límites de la valoración reportados en la bibliografía.

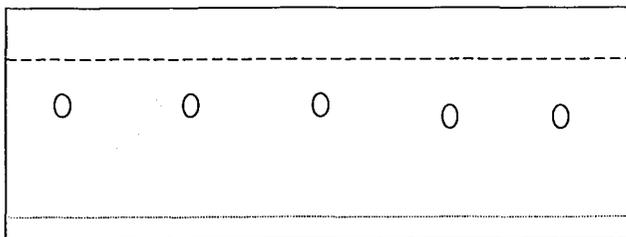
### **9.7 ESTUDIOS DE FORMULACIÓN**

A partir de los resultados obtenidos a partir de los estudios de preformulación, obtuvieron los componentes adecuados para la forma farmacéutica, que

previamente se demostró que son compatibles con el principio activo; estos fueron sometidos a diversas pruebas donde se variaba la cantidad de cada uno hasta obtenerlos porcentajes adecuados para tener una crema de buena apariencia, viscosidad, color, textura y sensación.

Se continúa con los estudios de formulación; donde se comenzará a formular teniendo en cuenta las proporciones propuestas en el Handbook of Excipients y utilizando los más comunes para una emulsión.

## **9.8 RESULTADO DE LA ESTABILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO**



<b>Ref</b>	<b>Principio Activo a Temp. amb.</b>	<b>Principio Activo a 65°C</b>	<b>Producto innovador</b>	<b>Producto nuevo</b>
------------	--------------------------------------	--------------------------------	---------------------------	-----------------------

Fig. No. 9. Cromatoplaça del producto nuevo, innovador y estabilidad del principio activo.

**FORMULA DE PARTIDA**

<b>Compuesto</b>	<b>Porcentaje ( % )</b>	<b>HLB</b>
Principio activo	2.00	----
Agente Emulsificante 1	4.00	14
Agente Emulsificante 2	4.00	15
Agente Cosolvente 1	4.00	12
Agente Cosolvente 2	5.00	----
Agente Cosolvente 3	10.00	----
Agente Tensoactivo 1	3.24	4.7
Agente Tensoactivo 2	1.76	15
Agua purificada	cbp 100 mg	----

De la fórmula de partida se obtuvo una crema de apariencia dura, una textura poco agradable y un color apertado, por lo que se decidió hacer propuestas tomando valores dentro de los rangos de la bibliografía diferentes de los agentes a utilizar, para así obtener una crema de apariencia semisólida, no dura, textura agradable y de color blanco.

### Calculo del HLB

**HLB de la fase oleosa:**

Componente	Porcentaje (%)	HLB	$\frac{HLB \cdot \%}{\Sigma \%}$
Agente emulsificante 1	4	14	4.66
Agente emulsificante 2	4	15	5.00
Cosolvente 1	4	12	4.00
$\Sigma$	12	-----	

**HLB de fase oleosa = 13.66**

**Tomando la siguiente ecuación; tenemos:**

$$\alpha + \beta = 1$$

$$\beta = (1 - \alpha)$$

si  $\alpha$  = HLB de agente tensoactivo 1 y  $\beta$  = HLB de agente tensoactivo 2; se tiene:

$$4.7 \alpha + 15 (1 - \alpha) = 13.66$$

Desarrollando la ecuación:

$\alpha = 0.13$  y  $\beta = 0.87$ ; multiplicando por 100 para obtener porcentajes se tiene :

$\alpha = 13\%$  y  $\beta = 87\%$ ; si se desea un 6% total de agentes tensoactivos en la formula de la emulsión, se obtiene las cantidades de cada uno, siendo estas las antes mencionadas.

#### **NIVELES DE AGENTES EMULSIFICANTES**

Se probaron diferentes proporciones de agentes emulsificantes de los cuales los más representativos están en la tabla siguiente:

Primeramente la variable de respuesta deseada es la apariencia de la crema, la requerida es una apariencia semisólida, no dura y de fácil extensión.

Tabla no. 22. Niveles de agentes emulsificantes utilizados.

Componente	Formula 1 (%)	Formula 2 (%)	Formula 3 (%)	Formula 4 (%)	Formula 5 (%)	Formula 6 (%)	Formula 7 (%)	Formula 8 (%)
Emulsificante 1	2	4	3	—	2	2	2	2
Emulsificante 2	2	4	3	4	—	2	2	2
Emulsificante 3	—	—	—	4	2	2	3	4

Al adicionar mayor cantidad de emulsificantes, la crema presentaba una consistencia de mayor dureza y que disminuía al reducir la cantidad de estos.

Por lo que se eligió por la formula no 7, que además nos ayuda a tener una textura tersa al extenderse.

**NIVELES DE AGENTE COSOLVENTES**

Se probaron 3 cosolventes en proporciones que de cada uno da diferente acción (preservativo, humectante, emoliente, etc.); de los cuales estas se fijaron para sólo mover las proporciones de los emulsificantes.

Tabla No. 23. Niveles de agentes cosolventes utilizados.

<b>Componente</b>	<b>Porcentaje (%)</b>	<b>Acción</b>
<b>Cosolvente 1</b>	<b>15</b>	<b>Preservativo antimicrobiano</b>
<b>Cosolvente 2</b>	<b>5</b>	<b>Emoliente Humectante</b>
<b>Cosolvente 3</b>	<b>4</b>	<b>Humectante</b>

Al no modificar los niveles de cada uno de los agentes cosolventes la apariencia y textura de la crema no se veían afectadas.

#### **NIVELES DE AGENTES TENSOACTIVOS**

Se tomaron dos tensoactivos que contaban con características semejantes, de estos se probaron diferentes niveles según el HLB de la fase oleosa y de cada uno de estos; los niveles más representativos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla No. 24. Niveles de agentes tensoactivos utilizados.

<b>Componente</b>	<b>Formula 1 (%)</b>	<b>Formula 2 (%)</b>	<b>Formula 3 (%)</b>	<b>Formula 4 (%)</b>	<b>Formula 5 (%)</b>
Tensoactivo 1	3.48	1.74	0.42	3.9	3.24
Tensoactivo 2	2.52	1.26	2.58	2.1	2.76

Al adicionar 6g de tensoactivos totales, las formulaciones tenían una textura tersa y agradable, mientras que a menor cantidad esta era más rugosa.

#### **NIVELES DEL AGENTE OPALESCENTE:**

Como se deseaba una crema de color blanco, que semejara el color del producto innovador, la variable de respuesta paso a ser el color, para lo que se probaron diferentes niveles del agente opalescente, que se observan en la siguiente tabla:

Tabla No. 25. Niveles de agente opalescente utilizado.

Componente	Porcentaje 1 (%)	Porcentaje 2 (%)	Porcentaje 3 (%)	Porcentaje 4 (%)
Agente opalescente	0.5	1.0	2.0	3.0

El color deseado se encontró entre los niveles de agente opalescente de 0.5 y 1.0% por lo que se tomó un 0.8% de este agente.

Como último el agua purificada se ajustaba según los pesos de cada uno de los excipientes.

A partir de los datos recopilados de cada uno de los agentes, se obtuvo una formulación con los siguientes porcentajes.

## 9.10 FORMULA FINAL

Tabla no. 26. Porcentajes de la formula final.

Compuesto	Porcentaje (%)
Principio activo	2.00
Agente Emulsificante 1	2.00
Agente Emulsificante 2	2.00
Agente Emulsificante 3	3.00
Agente Cosolvente 1	4.00
Agente Cosolvente 2	5.00
Agente Cosolvente 3	15.00
Agente Tensoactivo 1	3.24
Agente Tensoactivo 2	2.76
Agente Opalescente	0.80
Agua desmineralizada cbp	100.00

La formula final contaba con todos las características deseadas, que fueron predeterminadas por el producto innovador antes caracterizado.

La formula final cuenta con un HLB de:

**HLB de fase oleosa = 9.44**

**Tomando la siguiente ecuación; tenemos:**

$$\alpha + \beta = 1$$

$$\beta = (1 - \alpha)$$

si  $\alpha$  = HLB de agente tensoactivo 1 y  $\beta$  = HLB de agente tensoactivo 2; se tiene:

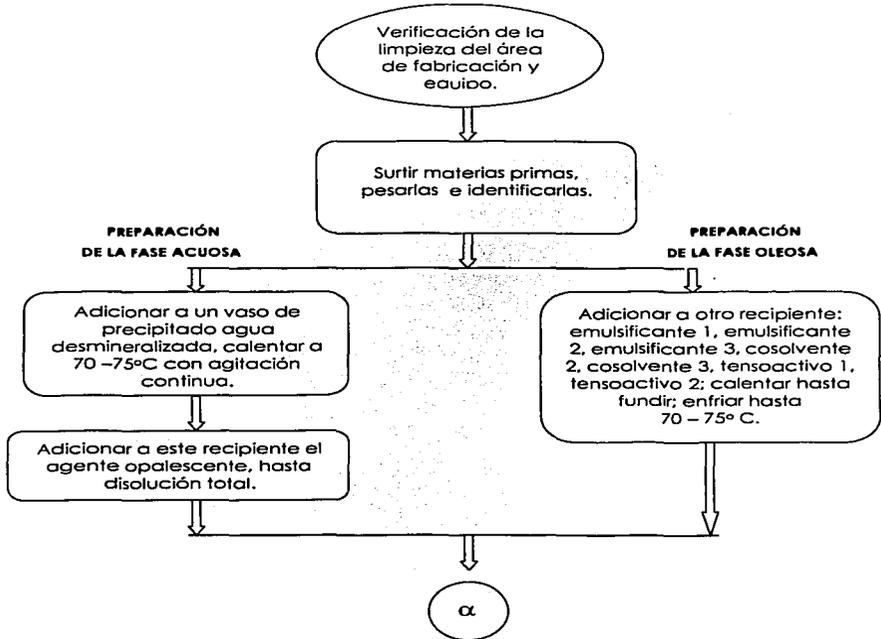
$$4.7 \alpha + 15 (1 - \alpha) = 9.44$$

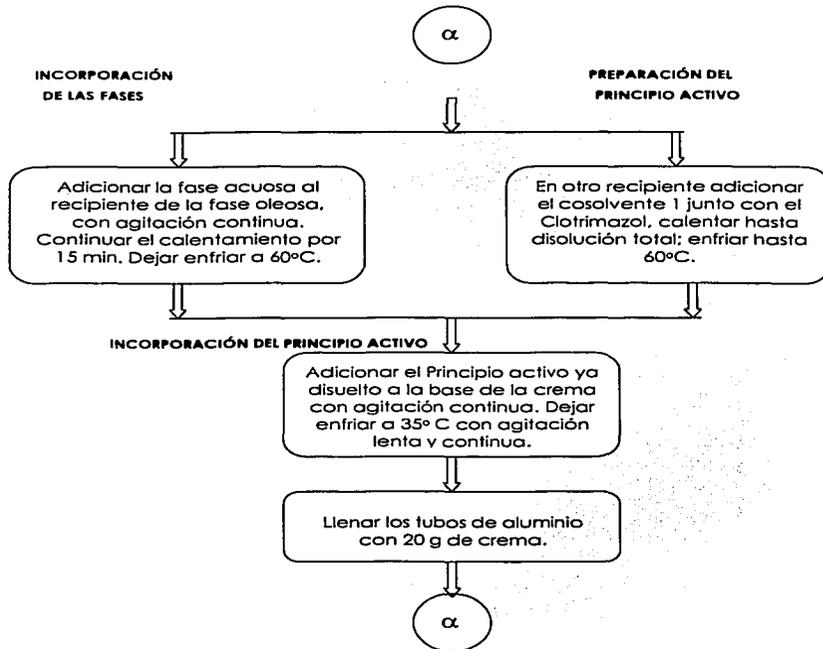
Desarrollando la ecuación:

$\alpha = 0.54$  y  $\beta = 0.46$ ; multiplicando por 100 para obtener porcentajes se tiene :

$\alpha = 54\%$  y  $\beta = 46\%$ ; si se desea un 6 % total de agentes tensoactivos en la formula de la emulsión, se obtiene las cantidades de cada uno, siendo estas las antes mencionadas.

## 9.11 MÉTODO DE FABRICACIÓN





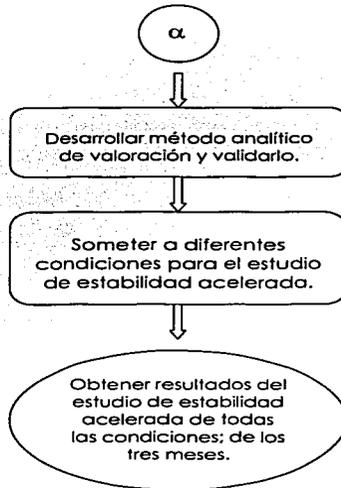


Fig. No. 10. Esquema del proceso de fabricación.

#### **ELABORACIÓN DE LOTES PILOTO**

Se hicieron tres lotes piloto para realizar las pruebas de estabilidad acelerada, utilizando la formulación final.

NO. LOTE:  
GPA-340  
GPA-341  
GPA-342

## **9.12 ESTUDIOS DE ESTABILIDAD ACCELERADA**

Se someterán tres lotes piloto al estudio de estabilidad acelerada; utilizando la formulación final y el proceso de fabricación ya descrito. Estos se colocaran a las siguientes condiciones:

Tabla No. 27. Condiciones para someter los lotes piloto.

<b>Condición</b>	<b>Código de color</b>
5 °C	Amarillo
Temperatura ambiente	Morado
30 °C	Rojo
40 °C	Verde

A los lotes fabricados se les realizarán pruebas fisicoquímicas de inicio, al primer, segundo y tercer mes; estas son:

Tabla No. 28. Pruebas a las que se someterán los lotes piloto después de muestrear.

Prueba	Piezas a utilizar*
Límites microbianos**	6
Valoración ***	2
pH ***	1
Irritabilidad en piel**	1
Conservadores**	5

\* Piezas de 20 g de crema \*\* Sólo inicial y tercer mes \*\*\*Cada mes

Todas estas pruebas se realizan en los respectivos departamentos del sitio donde se desarrolla el tema; es decir el departamento de Métodos Analíticos y Análisis Microbiológicos.

## 9.13 RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE ESTABILIDAD ACCELERADA.

NO. LOTE: GPAN-340

Tabla No. 33. Resultados de la valoración del Lote no. GPAN-340

	VALORACIÓN	DESCRIPCIÓN	PH
<b>Especificación</b>	95- 105 %	Crema semisólida, blanca,	5.5- 7.0
<b>Tiempo / temperatura</b>	(1.9-2.1mg/100g)	homogénea, libre de granulos y partículas extrañas	
<b>Inicial</b>	98,38 % 1.96 mg	CUMPLE	6.03
<b>1er. Mes 40°C</b>	97,93 % 1.95 mg	CUMPLE	6.05
<b>2º. Mes 40°C</b>	98,86 % 1.97 mg	CUMPLE	6.10
<b>3er. Mes 40°C</b>	99,87 % 1.99 mg	CUMPLE	6.02
<b>3er. mes 30°C</b>	99,53 % 1.99 mg	CUMPLE	6.20

NO. LOTE: GPAN-341

Tabla No. 34. Resultados de la valoración del Lote no. GPAN-341

Especificación Tiempo / temperatura	VALORACIÓN 95- 105 % (1.9-2.1mg/100g)	DESCRIPCIÓN Crema semisólida, blanca, homogénea, libre de granulos y partículas extrañas	PH 5.5- 7.0
Inicial	99.99 % 1.99mg	CUMPLE	6.19
1er. Mes 40°C	100.93 % 2.01 mg	CUMPLE	6.26
2º. Mes 40°C	98.05 % 1.96 mg	CUMPLE	6.15
3er. Mes 40°C	98.57 % 1.97 mg	CUMPLE	6.51
3er.mes 30°C	99.29 % 1.98 mg	CUMPLE	6.12

**NO. LOTE: GPAN-342**

Tabla No. 35. Resultados de la valoración del Lote no. GPAN-342

Especificación Tiempo / temperatura	VALORACIÓN	DESCRIPCIÓN	PH
Inicial	95- 105 % (1.9-2.1mg/100g)	Crema semisólida, blanca, homogénea, libre de granulos y partículas extrañas	5.5- 7.0
1er. Mes 40°C	98,84 % 1.97 mg	CUMPLE	6.06
2º. Mes 40°C	98,79 % 1.97 mg	CUMPLE	6.11
3er. Mes 40°C	98,86 % 1.96 mg	CUMPLE	6.03
3er.mes 30°C	99,32 % 1.98 mg	CUMPLE	6.13
	101.01 % 2.02 mg	CUMPLE	6.15

Como se observa en las tablas anteriores, el producto es estable , ya que cumplió con las especificaciones antes descritas.

Tabla No. 29 resultados de las pruebas efectuadas.

<b>Característica</b>	<b>Referencia</b>	<b>Resultado</b>
<b>Aspecto</b>	Crema semisólida suave, blanca, homogénea, libre de granulos y partículas extrañas	Crema semisólida suave, blanca, homogénea, libre de granulos y partículas extrañas
<b>Identidad por UV</b>	Conforme a la referencia	Conforme a la referencia
<b>Identidad por Infrarrojo</b>	Conforme a la referencia	Conforme a la referencia
<b>Identidad por CLAR</b>	Conforme a la referencia	Conforme a la referencia
<b>Sustancia relacionada</b>	Cumple	Cumple
<b>Valoración del principio activo</b>	De 1.9 - 2.1 en 100g de crema ( 95.0 - 105.0 % de lo indicado en el marbete)	97 - 101%

## 9.14 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Método de validación por CLAR

### 9.14.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Tabla No. 29. Resultados de la linealidad del sistema.

Nivel %	Concentración (µg/mL)	No. Replica	ABC	Promedio	SD	CV
60	120	1	584767	581139	3515.26	0.60
		2	581061			
		3	577740			
80	160	1	775717	775911	2484.20	0.32
		2	773530			
		3	778487			
100	200	1	974035	979748	5794.48	0.59
		2	979303			
		3	986746			
		4	977988			
		5	986634			
		6	973785			
120	240	1	1171536	1177250	5140.79	0.44
		2	1181500			
		3	1178714			
140	280	1	1369065	1377243	7362.20	0.53
		2	1379323			
		3	1383342			

**b = -18323.5**  
**b<sub>rel</sub> = - 0.0187**

**m = 4983.6175**  
**m<sub>rel</sub> = 1.0187**

**r = 0.99997**  
**r<sup>2</sup> = 0.99995**

En base a los resultados obtenidos, se demuestra que concentraciones entre el 60 y 140% de principio activo dan una respuesta lineal, también se observa el cumplimiento de los criterios establecidos para el CV de la tabla no.7.

### 9.14.2 PRECISIÓN DEL SISTEMA

$$\bar{x} = 979748.5$$

$$CV = 0.59\%$$

Se observa que el sistema es preciso, ya que cumple con el criterio de aceptación.

### 9.14.3 LINEALIDAD DEL MÉTODO

Tabla No. 30. Resultados de la linealidad del método.

Nivel %	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada	% Recuperado
60	15.3	15.40	100.684
	15.7	15.30	97.448
	15.4	15.09	98.017
	15.9	16.07	101.080
	15.4	15.76	102.342
	15.3	15.66	102.392
80	20.9	20.72	99.137
	20.8	21.02	101.049
	20.7	20.60	99.516
	21.0	21.24	101.145
	20.4	20.54	100.708
	20.2	20.65	102.210

100	22.8	22.86	100.281
	22.8	22.77	99.866
	23.8	23.99	100.783
	22.9	23.42	102.275
	23.2	23.61	101.775
	23.8	24.58	103.284
120	25.3	25.42	100.469
	25.4	25.74	101.341
	25.6	25.62	100.092
	25.6	25.73	100.561
	25.7	26.26	102.168
	24.8	25.79	102.776
140	27.8	27.62	99.357
	27.6	27.43	99.372
	27.8	27.63	99.385
	29.0	29.61	102.106
	28.3	28.83	101.884
	27.8	28.19	101.426

$$b = -0.1088$$

$$m = 1.0131$$

$$r = 0.9998$$

$$r^2 = 0.9997$$

$$\bar{x} = 100.834$$

$$CV = 1.41\%$$

El método es lineal, ya que cumple con lo establecido, porque se obtiene un parámetro de respuesta aceptable.

#### 9.14.4 EXACTITUD DEL MÉTODO Y REPETIBILIDAD

$$\bar{x} = 100.834$$

$$SD = 1.42$$

$$CV = 1.41\%$$

La exactitud cumple con los requerimientos ya establecidos.

### 9.14.5 REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO

Tabla No. 31. Resultados de la reproducibilidad del método.

Día	Analista	
	1	2
1	100.046	99.632
	100.210	101.151
	99.730	101.368
2	100.620	101.978
	101.194	101.849
	101.676	100.873

$$\bar{x} = 100.86$$

$$CV = 0.806\%$$

#### Análisis de varianza

Tabla No. 32. Resultados del análisis de varianza para determinar si es reproducible el método de valoración.

Fuente de variación	GL	SC	SCM	F calculado	F tablas
Analista	1	0.95	0.9492	0.6067	18.51
Día / analista	2	3.13	1.5646	3.9146	4.46
Error	8	3.20	0.3997		
Total	11				

Considerando el CV obtenido; se concluye que el método es reproducible bajo diferentes condiciones de operación.

La reproducibilidad cumple con los requerimientos, y se concluye que:

Si  $F_{\text{calculado}} \leq F_{\text{tablas}}$  el método es reproducible tanto por diferentes analistas como en diferentes días.

## **10. CONCLUSIONES**

Se obtuvo una formulación que contiene un principio activo con acción antimicótica, de uso vaginal, de aspecto agradable y de calidad comprobada.

Gracias a la exhaustiva investigación bibliográfica, tanto del principio activo como de la forma farmacéutica, se desarrolló una crema de calidad comprobada.

Se realizaron diversas etapas en el proceso de desarrollo, de las cuales entre ellas arrojaron resultados que fueron de gran ayuda en el desarrollo del producto.

De las etapas que se desarrollaron una de estas fue la de preformulación, formulación y estabilidad (valoración).

Para la evaluación del principio activo se realizaron diferentes pruebas que evaluaron la pureza, estabilidad de este a diferentes condiciones, compatibilidad con excipientes.

Los resultados obtenidos de los estudios de preformulación ayudaron a determinar que el principio activo debe encontrarse en condiciones oxidantes o ácidas, ya que su estabilidad se ve afectada; otra de las pruebas nos dan la compatibilidad con excipientes, de los cuales los agentes conservadores, para ajustar pH y uno que otro cosolvente y tensoactivo no son compatibles con el principio activo, los cuales no se agregaron a la formulación, para que el principio activo fuera estable en la formulación.

Obteniendo los resultados de la etapa de preformulación, se siguió con la siguiente etapa de formulación, donde se variaron los niveles de los agentes que deben estar dentro de la formulación y que además fueron compatibles, hasta la obtención de porcentajes óptimos para una crema semisólida que cumpliera con las especificaciones establecidas de color, textura, con ausencia de partículas extrañas y gránulos.

En la etapa de formulación se detectaron los puntos críticos del proceso de fabricación, donde éstos fueron la agitación, la temperatura y el orden de adición de las fases, por lo que se puso énfasis en el control de estos factores.

Obtenidos lotes piloto del producto se continuó a realizar estudios de estabilidad, donde se incluye una etapa analítica, realizando un procedimiento para la valoración del producto terminado, que tuvo que ser validado antes de utilizar, esto para asegurar que es consistente a cualquier condición de trabajo.

Este método analítico debía ser capaz de cuantificar tanto principio activo como a la sustancia relacionada, en el producto terminado, por tratarse de un Método Indicador de Estabilidad (MIE).

Como este método no es farmacopeico debía ser validado, para lo cual se consultó la bibliografía adecuada, dando como resultado un método sencillo y confiable.

Teniendo ya un Método Indicador de Estabilidad se prosiguió a la valoración del producto terminado, dando resultados dentro de los límites establecidos en la bibliografía.

Como conclusión final se obtuvo un producto de calidad comprobada y que está dentro de las posibilidades de la mayoría de la población que lo requiere.

## **11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Parrot, Eugene L. PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY; FUNDAMENTAL PHARMACEUTICS. Editorial Burges Publishing Company. USA; 1971 ( pp. 334 – 340 ).
  2. Lachman, Leon. THE THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL PHARMACY. 3ª edición. Editorial Lea & Febiger. Philadelphia, USA; 1986 (pp. 502 – 532)
  3. Banker, Gilbert S; Rhodes Christopher T. Modern Pharmaceutics. 3a edición. Edit. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, 1996. (pp. 213 –298)
  4. Genero, Alonso R. FARMACIA REMINGTON, 19ª edición. Editorial Panamericana. Argentina; 1998. (pp. 2315 – 2323; 2026 –2027 ).
  5. THE INDEX MERCK. 12ª edición. Merck & CO. Inc. USA; 1996. (pp. 2478).
  6. DICCIONARIO DE ESPECIALIDADES FARMACÉUTICAS . Ediciones PLM.
  7. Bonifaz, Alejandro. MICOLOGÍA MÉDICA BÁSICA. Editores Méndez. México; 1990. ( 120 –125 ).
  8. NOM – 073-SSA1-1993.NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-073-SSA1-1993. ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS.
  9. GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS. Editada por el Colegio Nacional De Químicos Farmacéuticos Biólogos México A. C. 2002 (pp. 20–30).
  10. PHARMACOPEIA EUROPEAN. Council of European. 3ªedición. Council of Europe; 2001 (pp. 949 – 950).
  11. BRITHISH PHARMACOPEIA. United Kingdom Vol. I . 1993. (pp. 454 – 455).
  12. BRITHISH PHARMACOPEIA. United Kingdom Vol. II . 1993. (pp. 1965 – 1966 ).
  13. USP 25. United States Pharmaceuticopeial Convetion, Inc. 2002. (pp. 458 –459).
-

14. Sanjay Garg,\* Kaustubh R.Tambwekar, Kavita Vermani, Alka Garg, Chaman, L.Kaul, and Lourens J.D.Zaneveld.  
COMPENDIUM OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS FOR VAGINAL FORMULATIONS *Pharm. Sci. Technol. Today* 3 (10), 359–364 (2000).