

70524
47



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**EVALUACION DE DIFERENTES AGENTES MODULADORES DE
PERMEACION SOBRE EL FLUJO DEL CLOTRIMAZOL A
TRAVES DE MEMBRANA VAGINAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

BEATRIZ OCAMPO SILVA

**ASESORES: M. en C. RAFAEL VILLALOBOS GARCIA
DRA. FLORA ADRIANA GANEM RONDERO**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

C. N. S. M.
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
SECRETARÍA DE SALUD
SECRETARÍA DE ECONOMÍA
SECRETARÍA DE CULTURA Y TURISMO
SECRETARÍA DE FERIA Y FOMENTO
SECRETARÍA DE GOBIERNO FEDERAL
SECRETARÍA DE JUSTICIA Y FERIA
SECRETARÍA DE LA ECONOMÍA
SECRETARÍA DE PLANEACIÓN Y ECONOMÍA
SECRETARÍA DE PROTECCIÓN CIVIL
SECRETARÍA DE TRABAJO Y PREVISIÓN SOCIAL
SECRETARÍA DE TRANSPORTES Y COMUNICACIONES
SECRETARÍA DE VIVIENDA Y OBRAS PÚBLICAS
SECRETARÍA DE YACIMIENTOS CULTURALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Evaluación de diferentes agentes moduladores de permeación
sobre el flujo del clotrimazol a través de membrana vaginal".

que presenta la pasante: Beatriz Ocampo Silva
con número de cuenta: 9105752-9 para obtener el título de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 7 de Octubre de 2002.

PRESIDENTE M. en F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza

VOCAL Dr. David Quintanar Guerrero

SECRETARIO Dra. Adriana Ganem Rondero

PRIMER SUPLENTE M. en F.C. Beatriz De Jesús Maya Monroy

SEGUNDO SUPLENTE O.B.P. Martha E. García Corrales

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIAS

Este trabajo se lo dedica a las personas que más amo:

A mis Padres: **Salvador Ocampo y Elena Silva** por su cariño, apoyo y comprensión que me han brindado siempre y sobre todo por ayudarme a alcanzar la meta más grande de mi vida. Gracias.

A mis Hermanas: **Rosario y Verónica Ocampo**

Que con su ejemplo, sus enseñanzas y su ayuda incondicional que siempre me han dado estoy apunto de lograr uno de los sueños más grandes de mi vida , por esto y muchas cosas más les doy las Gracias:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS.

A mis asesores: **Rafael Villalobos y Adriana Ganem**

Por darme la oportunidad de haber trabajado con ustedes en este proyecto, por su apoyo, sus conocimientos y por todo el tiempo que me brindaron Muchísimas Gracias.

A mis Sinodales por sus consejos y el tiempo que invirtieron en este trabajo. Gracias.

A la UNAM por darme la oportunidad de formarme profesionalmente en la FES-Cuautitlan, y muy especialmente gracias a todos los profesores de dicho plantel, que con sus conocimientos y experiencias hacen de nosotros gente responsable y profesional.

A mis Amigos:

Leticia Martínez, Mónica Peña, Lourdes Ramos, Guadalupe Arce, Ana Rosa López, Leticia Fajardo, José Luis Guerrero, Rafael Hernández y en general a la generación 22. Gracias a todos ustedes por su ayuda, por su amistad, por los buenos y malos ratos que pasamos, pero sobre todo por ser mis amigos.

Agradecimiento al Ing. Draucin Jiménez del taller de vidrio soplado de la FES-C por su valiosa ayuda en la elaboración de las celdas de permeación.

TRABAJADO CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE GENERAL:

	pág.
Índice general.....	ii
Índice de Tablas.....	v
Índice de Figuras.....	vi
Abreviaturas empleadas en el trabajo.....	vii
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
1. CARACTERÍSTICAS DE LOS HONGOS	2
1.1 Generalidades.....	2
1.1.2 Estructura y crecimiento.....	2
1.1.3 Clasificación de los hongos de acuerdo al micelio formado.....	2
1.1.4 Citología.....	3
1.1.5 Pared celular.....	3
1.1.6 Metabolismo.....	3
1.2 Clasificación de las Micosis.....	4
1.2.1 Micosis sistémicas o profundas.....	4
1.2.2 Micosis subcutáneas.....	5
1.2.3 Micosis cutáneas.....	5
1.2.4 Micosis superficiales.....	5
1.3 <i>Cándida Albicans</i>	5
1.4 Candidiasis Vaginal.....	6
1.4.1 Tratamiento.....	7
1.5 Clasificación de los Antimicóticos.....	8
1.5.1 Azoles.....	8
1.5.2 Polienos.....	8
1.5.3 Flucitosina.....	9
1.5.4 Griseofulvina.....	9
1.5.5 Otros Antimicóticos.....	9
1.6 Clotrimazol.....	12
2. CARACTERÍSTICAS DE LA VAGINA	14
2.1 Aspectos anatómicos y fisiológicos de la vagina.....	14
2.2 Flora normal del cuerpo humano.....	19
2.3 Flora normal de la vagina.....	19
3. FENÓMENO DE PERMEACIÓN	21
3.1 Permeación a través de membranas.....	21
3.2 Conceptos de difusión a través de la membrana.....	22
3.3 Ley de Difusión de Fick.....	23
3.4 Celdas de difusión.....	25
3.5 Clasificación.....	26
3.5.1 Celdas de difusión horizontal.....	26
3.5.2 Celdas de difusión vertical.....	27

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. MODULADORES DE PERMEACIÓN.....	28
4.1 Definición de promotor de permeación.....	28
4.2 Mecanismo de acción de los promotores de permeación.....	29
4.3 Ejemplo de Promotores de Permeación.....	29
4.3.1 Disolventes orgánicos.....	29
4.3.2 Alcoholes grasos.....	29
4.4 Clasificación de los Promotores de Permeación.....	30
4.4.1 De acuerdo a su polaridad.....	30
4.4.2 De acuerdo a su naturaleza química.....	30
4.5 Promotores de Permeación Utilizados.....	31
4.5.1 Azona.....	31
4.5.2 Propilenglicol.....	32
4.5.3 Dermac SR-38.....	33
4.5.4 Etanol.....	33
II. OBJETIVOS.....	35
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	36
3.1 Material y Equipo.....	36
3.1.1 Material.....	36
3.1.2 Equipo.....	36
3.1.3 Reactivos.....	36
3.2 Metodología.....	37
3.2.1 Determinación de la λ de máxima absorción del Clotrimazol en mezcla etanol-agua.....	37
3.2.2 Solubilidad en etanol-agua (30:70).....	37
3.2.3 Estabilidad en etanol-agua (30:70).....	37
3.2.4 Curva de calibración en etanol-agua (30:70).....	37
3.2.5 Preparación de solución saturada con membrana.....	37
3.2.6 Solubilidad en solución saturada.....	38
3.2.7 Curva de calibración con solución saturada.....	38
3.2.8 Obtención de la vagina.....	38
3.2.9 Permeación etanol-agua.....	38
3.3.0 Permeación con promotor.....	39
3.3.1 Factor de promoción.....	39
IV. RESULTADOS.....	40
4.1 Determinación de la λ de máxima absorción.....	40
4.2 Curvas de calibración para el clotrimazol.....	41
4.2.1 Curva de calibración en mezcla etanol-agua (30:70).....	41
4.2.2 Curva de calibración en solución saturada.....	42
4.3 Solubilidad del clotrimazol.....	43
4.3.1 Solubilidad en etanol-agua.....	43
4.3.2 Solubilidad con solución saturada.....	43
4.4 Estabilidad del clotrimazol.....	44
4.5 Permeaciones.....	45
4.5.1 Etanol-agua.....	45
4.5.2 Propilenglicol.....	46

4.5.3 Dermac-Propilenglicol.....	47
4.5.4 Azona- Propilenglicol.....	48
4.5.5 Agua.....	49
4.5.6 Comparación de las cinéticas de permeación del Clotrimazol utilizando diferentes agentes promotores.....	50
4.6 Cantidad retenida de clotrimazol en membrana vaginal.....	51
V. ANALISIS DE RESULTADOS.....	52
VI. CONCLUSIONES.....	55
PERSPECTIVAS.....	56
Anexo 1 Estadística de la curva de calibración del clotrimazol en etanol-agua.....	57
Anexo 2 Estadística de la curva de calibración para el clotrimazol con membrana vaginal.....	59
Anexo 3 Estadística de la comparación entre las pendientes de las curvas de calibración del clotrimazol.....	61
Anexo 4 Prueba de ANADEVA para la cantidad permeada.....	62
Anexo 5 Prueba de ANADEVA para la cantidad retenida en membrana.....	63
Anexo 6 Datos de permeaciones.....	64
REFERENCIAS.....	66

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE DE TABLAS

	pág.
Tabla 1.- Diferencias entre los hongos y bacterias.....	4
Tabla 2.- Antimicóticos utilizados en la actualidad.....	11
Tabla 3.- Solubilidad del clotrimazol en etanol-agua 30:70.....	43
Tabla 4.- Solubilidad del clotrimazol en solución saturada.....	43
Tabla 5.- Estabilidad del clotrimazol.....	44
Tabla 6.- Datos de la cinética de permeación del Clotrimazol en etanol-agua.....	45
Tabla 7.- Datos de la cinética de permeación del Clotrimazol con propilenglicol.....	46
Tabla 8.- Datos de la cinética de permeación del Clotrimazol con propilenglicol-Dermac.....	47
Tabla 9.- Datos de la cinética de permeación del clotrimazol con propilenglicol - Azona.....	48
Tabla 10.- Datos de permeación del clotrimazol sin promotor.....	49
Tabla 11.- Datos de permeación, flujo de permeación y factor de promoción.....	50

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE DE FIGURAS

	pág.
Figura 1.- Estructura molecular del Clotrimazol.....	13
Figura 2.- Esquema de la vagina humana.....	18
Figura 3.- Representación esquemática del perfil de concentración.....	23
Figura 4.- Celda de difusión horizontal.....	26
Figura 5.- celda de difusión tipo Franz.....	27
Figura 6.- Estructura molecular de la Azona.....	31
Figura 7.- Estructura molecular del Propilenglicol.....	32
Figura 8.- Estructura molecular del Dermac SR-38.....	33
Figura 9.- Espectro del Clotrimazol.....	40
Figura 10.- Curva de calibración del clotrimazol en etanol-agua 30:70.....	41
Figura 11.- Curva de calibración del clotrimazol con solución saturada.....	42
Figura 12.- Estabilidad del clotrimazol.....	44
Figura 13.- Cinética de permeación del clotrimazol en etanol-agua 30:70.....	45
Figura 14.- Cinética de permeación del clotrimazol con propilenglicol.....	46
Figura 15.- Cinética de permeación del clotrimazol con propilenglicol-Dermac.....	47
Figura 16.- Cinética de permeación del clotrimazol con propilenglicol-Azona.....	48
Figura 17.- Cinética de permeación del clotrimazol utilizando como solvente agua.....	49
Figura 18.- Comparación de las cinéticas de permeación del clotrimazol.....	50
Figura 19.- Cantidad de clotrimazol retenida en membrana.....	51

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ABREVIATURAS EMPLEADAS EN EL TRABAJO

C. albicans : Candida albicans

DSC. Calorimetría diferencial de barrido.

FP: Factor de promoción.

HLB Balance hidrofílico lipofílico

O/W : aceite en agua

Pg : Propilenglicol

Prom.: Promotor.

SSF : Solución salina fisiológica

SC : Estrato Corneo

Tm : Temperatura de Transición vítrea

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

PAGINACIÓN DISCONTINUA

RESUMEN

La candidiasis vaginal es una de las patologías infecciosas que frecuentemente afectan a la mujer, ésta se adquiere como una enfermedad transmitida sexualmente o como una infección endógena. La enfermedad puede ocurrir como consecuencia de diversos factores, entre éstos: el embarazo, el empleo de anticonceptivos, el uso de antibióticos, los hábitos higiénicos y del vestido. El tratamiento de la candidiasis vaginal ha sido de lo más variado: duchas con medios ácidos, violeta de genciana y actualmente imidazoles.

En la búsqueda de sistemas terapéuticos más efectivos, se propone la inclusión de promotores (también llamados moduladores) de permeación, con el fin de favorecer la penetración del principio activo y aumentar el tiempo de contacto con el tejido.

Los agentes moduladores de permeación son sustancias que modifican la permeación membranar de una sustancia. La efectividad de las sustancias moduladoras depende tanto de sus propiedades fisicoquímicas como de la del fármaco, del sitio de administración (grosor de la membrana, morfología celular, actividad enzimática, composición lipídica y proteínica, factores estructurales y funcionales). Los moduladores de permeación utilizados en este estudio fueron: Etanol, Propilenglicol, Azona y Dermac.

El objetivo planteado en este estudio fue determinar la permeabilidad del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo, así como evaluar el efecto de los diferentes moduladores de permeación sobre la membrana vaginal de cerdo. Esto se logró realizando diferentes cinéticas de permeación de la siguiente manera: utilizando celdas verticales de difusión tipo Franz, en la cual se adicionó 3mg de Clotrimazol y 1.8ml de etanol-agua (30:70) para comenzar con la cinética de permeación por 48 horas.

Con los datos que se obtuvieron de cada cinética se calculó la cantidad permeada de clotrimazol a través de la membrana, la cantidad retenida en la membrana y el factor de promoción, construyendo los gráficos de cada cinética de permeación. Los resultados muestran que la cantidad permeada de clotrimazol a través de la membrana vaginal varió de acuerdo al siguiente orden: Etanol-agua > agua > Propilenglicol > Azona > Dermac.

En conclusión se determinó la permeabilidad del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo, así como también se evaluó el efecto de los diferentes moduladores de permeación.

I. INTRODUCCIÓN.

I. CARACTERÍSTICAS DE LOS HONGOS

1.1 GENERALIDADES:

El descubrimiento causal de algunos hongos con enfermedades infecciosas precedió en muchos años al primer trabajo de Pasteur y Koch con bacterias patógenas, ya que Schoenlein y Gruby estudiaron en 1939 el hongo causante del favus (*trichophyton schoenleinii*), y el mismo año Lagenbeck descubrió el microorganismo del algodoncillo (*Candida albicans*) semejante a una levadura. Gruby aisló el hongo de la tiña en rebanadas de patata, las frotó contra la cabeza del niño, y produjo la enfermedad. Así llenó los postulados de Koch, cuarenta años antes de que fueran formulados.

A pesar de su inicio temprano, la micología médica pronto fue aventajada por la bacteriología y nunca ha recibido tanta atención, aunque dentro de las infecciones más comunes del hombre se encuentran algunas producidas por hongos. Esto tal vez pueda atribuirse a la naturaleza relativamente benigna de las micosis comunes.

1.1.2 ESTRUCTURA Y CRECIMIENTO

El elemento principal de crecimiento o forma vegetativa de un hongo es la hifa (griego, *hipe*=caña), estructura tubular ramificada, de unas 2 a 10 μ de diámetro. Sus hifas forman al crecer un conjunto de ramificaciones entretejidas, denominadas micelios, que originan una colonia o talo. La mayor parte de las colonias crecen en la superficie de los medios líquidos o sólidos con aspecto irregular, seco y filamentosos. En el centro de las colonias miceliales, las hifas están necrosadas por la deficiencia de sustancias nutritivas y oxígeno y, quizá, por la acumulación de ácidos orgánicos (Bernad, 1983).

De acuerdo con la estructura de la hifa ésta se clasifica en:

- a) Hifa verdadera.- Son propias de los hongos filamentosos o mohos y se forman a partir de la germinación de una conidia o espora.
- b) Pseudohifa.- Son propias de los hongos levaduriformes y se forman a partir de germinaciones (gemaciones o blastosporas). Son células esféricas u ovales unicelulares con un diámetro de 3 a 5 μ aproximadamente.

1.1.3 CLASIFICACION DE LOS HONGOS DE ACUERDO AL MICELIO FORMADO

a) En base a su función como:

*Reproductivo o aéreo, que soporta las estructuras y formas de reproducción, se forma por arriba de la superficie del substrato.

*Vegetativo o de nutrición, se encarga de la absorción y transformación de los nutrientes, penetrando al interior del substrato.

b) En base a su forma como:

*Filamentoso ó pluricelular propios de los mohos.

*Unicelulares propios de las levaduras.

c) En base al diámetro de la hifa como:

*Macrosifonado mayor que 1 micra

*Microsifonado, menor que 1 micra.

d) En base a la ausencia o presencia de pigmentos.

*Hialino (sin color)

*Pigmentado o Melánico

*Carotenoide (amarillo a rojo)

*Dermatáceo (negro) (Bonifaz, 1998).

1.1.4 CITOLOGIA

Las levaduras y los mohos se parecen a las plantas superiores y a los animales en la complejidad anatómica de sus células. Son eucariotas y poseen varios cromosomas diferentes y una membrana nuclear perfectamente definida, así como mitocondrias y un retículo endoplásmico. Sus membranas contienen esteroides, por los que se asemejan a la de los organismos superiores más que a la de las bacterias (Bernard, 1983).

1.1.5 PARED CELULAR

El citoplasma de todas las células vivas está circunscrito por la membrana citoplasmática, la cual sirve como una barrera de permeabilidad selectiva, realiza las funciones de transporte activo y de este modo controla la composición interna de la célula. Si se rompe la integridad funcional de la membrana citoplasmática, los nucleótidos, púricos y pirimidicos, así como las proteínas e iones escapan de la célula y sobreviene daño celular o muerte. La membrana citoplasmática de ciertas bacterias y hongos se puede desintegrar más fácilmente por ciertos agentes que las membranas de las células animales. En consecuencia, es posible la actividad quimioterapéutica selectiva (Katzung, 1986).

Las polimixinas son inactivas frente a los hongos y los polienos no tienen efecto sobre las bacterias. Esto se debe a la presencia de ergosterol en la membrana celular del hongo antes de ejercer su efecto. Los hongos que son resistentes a los polienos muestran un aumento en la cantidad de ergosterol en sus membranas o una modificación en su estructura. Los imidazoles antimicóticos, dañan la estructura de las membranas de los hongos al inhibir la biosíntesis de los lípidos de la membrana (Katzung, 1986).

1.1.6 METABOLISMO

La mayoría son aerobios, sin embargo algunas especies son facultativas, pero no se conoce ninguna especie anaerobia obligada. Las especies termófilas pueden crecer a temperaturas de hasta 50° o más; otras especies crecen en medios con elevada concentración de sales, mientras que otros lo hacen en medios extraordinariamente ácidos. Ciertos hongos son capaces de hidrolizar sustancias

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

orgánicas complejas, como la madera, el hueso, el cuero, la quitina, las ceras e incluso los plásticos sintéticos (Bernard, 1983).

Tabla 1. Principales diferencias entre hongos y bacterias. (Bernard, 1983).

Características	Hongos	Bacterias
Volumen celular (μ^3)	Levaduras: 20 – 50 Mohos: no definibles a causa de su tamaño indefinido y de sus formas	1-5
Núcleo	Eucariótico	Procariótico
Citoplasma	Mitocondria, retículo endoplásmico	No mitocondrias o retículo endoplásmico
Pared celular	Glucanos, manos, quitina, complejos proteínicos con glucanos y manos	Péptidos con ácido murámico, ácidos teicóicos
Membrana citoplasmática	Existencia de esteroides	Sin esteroides.
Metabolismo	Heterotrófico, aerobios, anaerobios facultativos	Aerobios obligados y facultativos
Dimorfismo	Una característica diferencial de muchas especies	Ausente

1.2 CLASIFICACION DE LAS MICOSIS

Resulta útil dividir las micosis en cuatro grupos, que se diferencian entre sí según los tejidos en que se localiza la infección (Bernard, 1983; Stannier, 1986).

1. Micosis generalizadas o profundas afectan fundamentalmente los órganos internos y las vísceras. A menudo se hallan diseminadas por el organismo y afectan a distintos tejidos.

2. Las micosis subcutáneas afectan la piel, tejido subcutáneo, fascias y huesos.

3. Las micosis cutáneas afectan la epidermis, cabellos y uñas.

4. Las micosis superficiales afectan sólo los cabellos y las capas más superficiales de la epidermis.

1.2.1 Las micosis sistémicas o profundas son producidas por hongos saprofitos que se hallan en el suelo, iniciándose el proceso infeccioso mediante la inhalación de esporas. Las lesiones iniciales afectan generalmente al pulmón, muchas veces pasa inadvertida o es atribuida a bacterias o virus. En su forma crónica se inician de forma insidiosa, progresan lentamente y se caracterizan por la presencia de lesiones granulomatosas o supurantes. No son contagiosas (Bernard, 1983).

1.2.2 Las micosis Subcutáneas son también producidas por saprofitos que se encuentran en el suelo o en la vegetación. La infección se produce por implantación directa de las esporas o fragmentos de micelios en las heridas de la piel y con frecuencia en las excoりaciones producidas por pinchazos; por ello tienden a ser más frecuentes en las zonas rurales y tropicales (Bernard, 1983).

1.2.3 Los hongos que producen micosis cutáneas presentan una destacada predilección para crecer en la epidermis, en el pelo y en las uñas. Sólo dos o tres de estas especies patógenas se han encontrado en el suelo, y sólo una de ellas se halla con cierta frecuencia, se transmiten por contacto directo con individuos contaminados o por escamas epidérmicas. Las enfermedades que causan tienden a ser muy crónicas, y la respuesta inflamatoria se halla confinada a la zona de la piel donde se localiza la infección, y no suele ser destructiva (Bernard, 1983).

1.2.4 Los hongos que causan micosis superficiales se localizan en los cabellos y en las zonas superficiales muertas de la epidermis. Las lesiones patológicas son poco importantes (Bernard, 1983).

Las infecciones causadas por hongos microscópicos se llaman micosis y son de origen endógeno o exógeno. Los hongos endógenos son parte de la flora normal en mucosas o piel o en individuos sanos y bajo condiciones de inmunosupresión pueden llegar a ser patógenos, el ejemplo clásico lo constituye *Candida albicans* que es un saprofito habitual de la mucosa oral, digestiva y genital del hombre. Para que pierda su condición de comensal y prolifere o invada el torrente circulatorio, produciendo metástasis orgánicas (candidiasis diseminada) debe existir una alteración del equilibrio homeostático y falla de los mecanismos defensivos globales del organismo, incluidos los inmunitarios (Carmona, 1998).

Los hongos exógenos viven fuera del hombre u otro animal, son parásitos obligados o saprofitos y pocas veces llegan a ser patógenos, constituyen el grupo de los oportunistas. Las micosis oportunistas en pacientes inmunocomprometidos representan un desafío, tal es el caso de *Aspergillus* que ingresa al organismo por inhalación y se localiza preferentemente en el pulmón, donde puede desencadenar una reacción alérgica (Carmona, 1998).

1.3 CANDIDA ALBICANS

Es un hongo levaduriforme oval y gemante que produce pseudomicelios tanto en los cultivos como en los tejidos y exudados. En la superficie de medios sólidos con alto contenido de nutrientes crece como levadura gemante oval, pero cuando lo hace en la profundidad del medio, puede formar hifas. En tejidos infectados y muchos cultivos pueden encontrarse característicamente ambas formas.

C. albicans crece fácilmente en los medios habituales a la temperatura ambiente ó a 37°. En los cultivos en medios sólidos, las colonias recientes se asemejan a las bacterianas, son lisas y cremosas, pero las colonias viejas son grandes y aparecen hundidas y rugosas. Fermenta la maltosa y la glucosa, produciendo ácido y gas; la fermentación de carbohidratos, junto con las características

coloniales y morfológicas, diferencian a *C. albicans* de otras especies de *Candida*; además éstas se hallan presente con frecuencia en las mucosas normales de la boca, vagina y tubo digestivo. Cuando se hacen invasoras en las circunstancias antes señaladas, pueden producir diferentes tipos de lesiones, agudas o crónicas (Bernard, 1983).

A continuación se citan las más frecuentes:

Boca. La infección de la boca (algodoncillo) se presenta principalmente en los niños formando placas blandas adherentes a la mucosa bucal, las cuales están formadas fundamentalmente por pseudomicelios y epitelio descamado; la erosión de la mucosa es mínima. El crecimiento de *Candida* en la saliva está aumentado por la glucosa, antibióticos y corticosteroides (Jawetz, 1985).

Genitales femeninos. La vulvovaginitis se parece al algodoncillo, pero produce irritación, comezón intensa y flujo. La mucosa vaginal se afecta en ocasiones durante el embarazo y en la diabetes (Jawetz, 1985).

Piel. La infección de la piel se presenta principalmente en las partes húmedas y calientes del cuerpo, tales como la axila, los pliegues interglúteos, la ingle, o los doblescotes inframamarios, es mucho más común en individuos obesos y diabéticos (Jawetz, 1985).

Manos. La infección de las manos y uñas por *Candida* se observa más frecuentemente después de inmersiones prolongadas y repetidas en agua; es más común en sirvientes, amas de casa, cocineras y entre personas que manejan vegetales o pescado (Jawetz, 1985).

Pulmones y otros órganos. La candidiasis pulmonar o renal y de otros órganos puede ser uno de los procesos secundarios cuando ya existe una enfermedad (por ejemplo tuberculosis o cáncer) (Jawetz, 1985).

1.4 CANDIDIASIS VAGINAL

La vulvovaginitis es una de las entidades nosológicas con mayor demanda de atención en la práctica de la medicina y es la causa de más visitas a los servicios de ginecología y obstetricia. Hoy en día se reconoce que es uno de los padecimientos infecciosos que causan más problemas emocionales así como pérdidas económicas (Alvarado, 1998).

La vaginitis puede ser producto de diversas enfermedades no relacionadas entre sí que se acompañan de múltiples síntomas y tienen orígenes muy distintos. Se trata de un padecimiento que por lo general es local y benigno, pero que puede ser de difícil erradicación si no se hace un diagnóstico preciso (Alvarado, 1998). Tradicionalmente las vaginitis se divide en dos clases:

1) Específicas, originadas por *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y *Neisseria gonorrhoeae*.

2) Inespecífica o vaginosis, causada principalmente por *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* y *Mobiluncus* sp. (Alvarado, 1998).

La candidiasis vaginal en la mujer se adquiere como una enfermedad transmitida sexualmente o como una infección endógena. Comúnmente, *Candida albicans* existe como comensal en el ser humano, pudiendo aislarse en adultos sanos, de la orofaringe en 30%, del intestino delgado en 50% y del intestino grueso en alrededor de 65% (Llaca, 1990).

La enfermedad ocurre como consecuencia de la disminución de las defensas del huésped o por la proliferación e invasión parasitaria lo que se facilita con el uso de antibióticos, en el embarazo, el empleo de anticonceptivos orales, la diabetes mellitus, los hábitos higiénicos, el vestido u otros factores que modifican la flora bacteriana corporal o la situación nutricional del organismo. El espectro de la enfermedad varía desde una infección superficial autolimitada hasta la invasión tisular intensa y aún sistémica (Llaca, 1990).

El tratamiento de la candidiasis vaginal ha sido de lo más variado: duchas con medios ácidos, violeta de genciana, ácido bórico, ampicilina, triple sulfá, tetraciclina, nistatina y actualmente imidazoles como clotrimazol, miconazol y otros. La función de los imidazoles es impedir el crecimiento del hongo y se les ha utilizado en tratamiento de siete y más recientemente de tres y un día (Serono, 1990; Llaca, 1990).

Algunos de los criterios más importantes para diagnosticar esta enfermedad son: a) fluido transvaginal fétido abundante homogéneo y grisáceo; b) pH de la secreción vaginal mayor a 4.5, debido a la disminución o pérdida de especies de lactobacilos que intervienen en la degradación de glucógeno a ácido láctico y en la producción de peróxido de hidrógeno, c) el olor "aminado" obtenido de la volatilización de aminas y ácidos grasos al agregar hidróxido de potasio al 10% y que con técnicas de laboratorio se han podido identificar; putrescina, cadaverina y trimetilamina y niveles relativos de succinato y lactato; d) la presencia de "células clave" (Flores, 1997).

1.4.1 TRATAMIENTO

Los principios fundamentales del tratamiento eficaz son: la identificación del organismo causal; el inicio del tratamiento (por lo general sistémico) y el tratamiento concomitante a la pareja o parejas sexuales (Alvarado, 1998). El tratamiento con una sola dosis se recomienda en la mujer no embarazada, con cistitis bacteriana aguda no complicada. La tasa de curación con dicho régimen oscila de 33 a 100 % con un promedio de 70 %. Otra ventaja de la dosis única incluye: a) aceptación y cumplimiento excelente por parte de la paciente, b) abatimiento del costo y c) disminución de efectos colaterales en comparación con regímenes más largos (Iris, 1996).

La dosis en caso de moniliasis vulvovaginal es una tableta de clotrimazol por vía vaginal al acostarse durante 14 días o de dos tabletas durante siete días, o de un aplicador de crema al acostarse durante dos semanas. Las mujeres que hayan

padecido un cuadro previo confirmado suelen reconocer los síntomas por sí mismas y automedicarse de manera segura con una preparación de las que se venden sin receta médica. Los efectos colaterales son escasos y leves, principalmente ardor leve del epitelio vaginal que desaparece pronto sin suspender el tratamiento (Lesher, 1994).

1.5 CLASIFICACION DE LOS ANTIMICÓTICOS

La mayoría de los hongos son completamente resistentes a la acción de los medicamentos antibacterianos. Solo unas cuantas sustancias han sido descubiertas que ejercen un efecto inhibitorio sobre los hongos patógenos para el humano y casi todos ellos son relativamente tóxicos (Carmona, 1998).

Los antimicóticos se clasifican en 5 grupos principales: Azoles, Polienos, Flucitosina, Griseofulvina y algunos productos químicos que por sus propiedades han demostrado ser útiles en la terapia antimicótica. Existe una gran variedad de antimicóticos y su clasificación se basa primordialmente en su modo de acción, su origen y estructura molecular. El avance de los nuevos fármacos ha abierto un gran campo de investigación que constituye todo un reto en el tratamiento de las micosis y en la lucha por su erradicación (Carmona, 1998).

En la actualidad el grupo más investigado, entre los agentes antimicóticos es el de los azoles. Entre los que se encuentran el Ketoconazol, Clotrimazol, Miconazol y Econazol (Carmona, 1998).

1.5.1 AZOLES

Los antimicóticos azólicos incluyen dos clases generales que son los Imidazoles y los triazoles. Ambos comparten el mismo espectro y mecanismo de acción contra los hongos: inhibición de las enzimas del citocromo P-450 que regulan la desmetilación del lanosterol y la síntesis del ergosterol en la membrana celular del hongo. Los triazoles sistémicos se metabolizan con mayor lentitud y tienen menor efecto en la síntesis de esteroides en el ser humano, que los imidazoles. Dentro de los imidazoles tenemos: Clotrimazol, Miconazol, Econazol, Butaconazol, Oxiconazol, Sulconazol y Ketoconazol. Dentro de los triazoles están: Terconazol, Troconazol y Fluconazol (Carmona, 1998; Lesher, 1994).

1.5.2 POLIENOS

Son un grupo de compuestos que se caracterizan por poseer un anillo macrólido que está encerrado por un éster interno o lactona, la cual contiene como mínimo una serie de tres dobles enlaces conjugados (poli-enos) con un azúcar residual. Existen alrededor de 100 compuestos que han sido llamados polienos, son productos naturales de la bacteria filamentososa de la especie *Streptomyces*, o derivados del compuesto natural. Todos los polienos dañan la membrana en la célula eucariótica, algunos exhiben una selectiva toxicidad para la membrana del hongo, lo cual da la potencialidad terapéutica de los agentes en infecciones micóticas. Dentro de los polienos tenemos anfotericina B, Candicidina, Natamicina y Nistatina (Carmona, 1998).



1.5.3 FLUCITOSINA

Está constituida por las moléculas de pirimidina fluorada. La flucitosina es el análogo fluorado de la citosina. Actúa por medio del ingreso a la levadura a través de un sistema de permeasas. El fármaco intracelular es desaminado a 5-fluorouracilo, el cual es incorporado al RNA del hongo en lugar de uracilo. El código genético es leído de forma equivocada y el crecimiento se detiene. Un segundo mecanismo de acción ocurre por medio de otro metabolismo, el monofosfato de 5-fluorodeoxiuridina, que inhibe la timidilato sintetasa y bloquea la síntesis del DNA.

Posee actividad útil en seres humanos en contra de *Cryptococcus neoformans*, especie de *Candida*, *Candida glabrata* y los agentes causales de la cromomicosis. Se absorbe muy bien por intestino, por lo que puede darse por vía oral para el tratamiento de las infecciones fúngicas sistémicas (Smith, 1997).

1.5.4 GRISEOFULVINA

Este fármaco fue aislado del *Penicillium griseofulvium* en 1939. La griseofulvina se une con el RNA fúngico e interfiere en los microtúbulos del haz micótico y el citoplasma. Estos microtúbulos transportan material a través del citoplasma hacia la pared celular. El daño de los túbulos altera la síntesis de la pared celular en los extremos en crecimiento de la hifas: por tanto, la griseofulvina sólo es efectiva contra los microorganismos en crecimiento.

La griseofulvina debe administrarse junto con alimentos ricos en grasas. El fármaco se distribuye de forma preferencial hacia la piel, el pelo y las uñas. Los efectos colaterales son poco comunes, pero el tratamiento debe ser prolongado para ser efectivo (Smith, 1997). Es preciso tomar este medicamento durante por lo menos un mes para curar la mayor parte de los casos de tiña crural y de la tiña de los pies. Para la tiña de la cabeza se requieren por lo menos 6-8 semanas. En la tiña del cuerpo, el tiempo de tratamiento necesario depende de la extensión de las lesiones. La micosis de las uñas de las manos requiere unos 4-6 meses de tratamiento con la griseofulvina, y es posible que las uñas de los pies requieran más de 12-18 meses si acaso responden (menos del 50% de las micosis de las uñas de los pies lo hacen) (Leshner, 1994).

1.5.5 OTROS ANTIMICÓTICOS

La literatura reporta una gran variedad de sustancias o compuestos químicos con actividad antimicótica, dentro de los cuales tenemos: a) halogenados: el iodo, b) metales pesados: compuestos de mercurio, c) azufre y derivados: azufre elemental y compuestos de azufre-tiocarbamilos y tiocarbonilidas; d) ácidos orgánicos alifáticos: los ácidos grasos fungicidas, e) compuestos aromáticos simples: fenoles y derivados de los fenoles halogenados -haloprogina-; f) detergentes catiónicos: compuestos de amonio cuaternario; g) colorantes: violeta de genciana (Litter, 1988).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

a) Halogenados: Iodo es un potente fungicida, mata a diversas especies como a la Epidermophyton, Trichophyton y Candida en concentraciones de 1:3000 a 1:80000, según la especie.

b) Metales pesados: Compuestos de mercurio. En las dermatomicosis puede utilizarse con éxito al óxido mercúrico amarillo, en pomadas o pastas al 3 o 10%, en aplicaciones 2 a 3 veces por día junto con ácido salicílico.

c) Compuestos de azufre – Tolnaftato se expande en solución al 1%, -Fluoronilida se expande en solución y polvo al 1%.

d) Ácidos grasos fungicidas. Los ácidos propiónico –saturado-, undecilénico –no saturado- y sus sales de sodio y de zinc con propiedades fungistáticas y fungicidas; se obtienen generalmente por síntesis. Estos ácidos grasos fueron las primeras sustancias bien activas en las dermatomicosis, pero resultaron inferiores a las drogas modernas.

La actividad antimicótica del sudor depende de los ácidos grasos que contiene.

e) Derivados de los fenoles halogenados: Haloprogina. Se expande en solución (alcohólica) y pomada al 1%. Para la tiña de los pies, del cuerpo y crural.

f) Detergentes catiónicos. Las principales sustancias de esta clase son todas sales de amonio cuaternario de origen sintético cuyo anión es el cloruro o bromuro. Todos son agentes detergentes y humectantes. Los principales son: cloruro de benzalconio; b) cetrimida, c) bromuro de cetiltrimetilamonio y d) Cloruro de decalinio. Los detergentes o surfactantes catiónicos son potentes germicidas que actúan sobre bacterias grampositivas, gramnegativas, hongos, protozoarios y virus.

g) Colorantes: violeta de genciana. Actúa sobre hongos patógenos de los géneros Cándida especialmente Epidermophyton, Trichophyton. En las dermatomicosis, vaginitis y estomatitis por Candida albicans puede utilizarse la violeta de genciana, especialmente en el caso de candidiasis empleándose una solución acuosa o alcohólica al 1 a 2%, 3 veces por día (Litter, 1988).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Algunos de los antimicóticos utilizados en la actualidad, así como la forma farmacéutica en que pueden ser encontrados y la micosis para la que son útiles (Leshner, 1994).

Ingrediente activo	Forma Farmacéutica	Utilidad clínica
Acido undecilénico y derivados	Talco, crema	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Clotrimazol	Crema al 1%, Frasco atomizador al 1%	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Clotrimazol	Comprimidos vaginales de 100 y 500mg, crema vaginal al 2% y al 10%	Moniliasis vulvovaginal
Nitrató de Econazol.	Crema y loción	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Ketoconazol	Gel, champú, crema al 2%, suspensión, tabletas de 200 mg	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Ketoconazol	Óvulos de 400mg, suspensión, tabletas de 200 mg	Moniliasis vulvovaginal
Nitrató de Miconazol	Crema al 2%, gel oral al 2%, solución al 2%	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Nitrató de Miconazol	Crema al 2%, óvulos vaginales de 100 y 400 mg	Moniliasis vulvovaginal
Nitrató de Sulconazol	Crema al 1%	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Clorhidrató de Terbinafina	Crema al 1%, comprimidos de 125 y 250 mg	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo
Tonalfato	Crema al 1%, solución al 1%, polvo al 1%	Tiña crural, Tiña de los pies, Tiña del cuerpo

Los antimicóticos están disponibles en casi todas las formas: tabletas, óvulos, cremas, lociones, talcos, champúes, suspensiones, cápsulas y ampollitas. Al administrar por vía sistémica, muchos de los fármacos más nuevos es necesario vigilar de manera estrecha la química sanguínea del paciente. Además es posible que existan interacciones críticas con otros medicamentos, algunos de los cuales no deben ser prescritos. A menudo se requiere un periodo prolongado para completar el tratamiento con antimicóticos, por lo que el costo es desalentador para muchos pacientes quienes en ocasiones no toman el régimen completo. Es importante que el paciente comprenda que debe continuar con el tratamiento durante un periodo adicional, que suele ser de 7-10 días – y en ocasiones más tiempo- después de que las lesiones hayan desaparecido. Esto permite cerciorarse de que las esporas y las hifas que no son visibles a simple vista sean erradicadas y minimizará el peligro de recurrencias (Leshner, 1994).

1.6 CLOTRIMAZOL

El clotrimazol fue sintetizado en Bayer Research Laboratories en Alemania en 1967 (Smith, 1997). El nombre químico del Clotrimazol es: 1-(2-clorofenil)difenilmetil-1H-imidazol (Klaus, 1982).

Preparación. A partir de la reacción entre imidazoles y cloruro de 2-clorotrifenílmetilo utilizando trimetilamina como receptor de protones (Smith, 1997).

Descripción. Es un polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido que funde alrededor de 147°C con descomposición; es débilmente básico y se hidroliza con el calentamiento con ácido acuoso (Remigton, 1998).

Solubilidad. Es levemente soluble en agua; es soluble en alcohol o cloroformo; es poco soluble en éter (Remigton, 1998).

Partición. Log P (n-octanol/agua) = 4.91 (Hashiguchi et al., 1998).

Estabilidad. El clotrimazol es un sólido estable en condiciones de almacenamiento normales. No se afecta en condiciones de temperatura de 70°C y exposición a la luz del día durante dos semanas (Klaus, 1982).

En solución la estabilidad del clotrimazol depende del pH. En medio alcalino es estable, pero en medio ácido se hidroliza a (o-clorofenil)-difenilmetanol plus imidazol. La estabilidad del clotrimazol en mezclas de etanol-agua e isopropanol-agua es relativa en condiciones ácido, neutro o alcalino (Klaus, 1982).

Usos. Es un agente antimicótico de amplio espectro que inhibe el crecimiento de dermatofitos patógenos, de levaduras y de Pityrosporon orbiculare. El fármaco muestra actividad bactericida in vitro contra aislamientos de Trichophyton rubrum, T. metagrophytes, Epidermophyton floccosum, Microsporum canis y Candida albicans. El Clotrimazol comparte con el Econazol y Miconazol la condición de primera elección para el tratamiento tópico de la tiña pedis, la tiña crural y la tiña del cuerpo debidas a cualquiera de los microorganismos mencionados antes, también para el tratamiento local de la candidiasis vulvovaginal. El Clotrimazol es eficaz para el tratamiento tópico de la candidiasis orofaríngea. En Europa también se usa en forma sistémica; sin embargo la mayoría de los estudios clínicos indican que cuando se emplea por vía oral tiene una eficacia limitada y una considerable toxicidad sobre el sistema nervioso central (Remigton, 1998).

El clotrimazol es fungistático en bajas concentraciones y fungicida en altas concentraciones. En bajas concentraciones inhibe la síntesis de novo de los esteroides necesarios para la formación de la membrana celular en los microorganismos que están creciendo en forma activa. El bloqueo bioquímico ocurre a nivel de la conversión del lanosterol en ergosterol. En altas concentraciones los imidazoles causan la lesión directa y el aumento de la permeabilidad de las membranas celulares de los hongos, con un efecto letal (Smith 1997).

El clotrimazol es poco hidrosoluble y mal absorbido por vía oral. El fármaco es un potente inductor de sus propias enzimas microsomales hepáticas, lo cual lleva a la disponibilidad cada vez menor del fármaco durante el curso del tratamiento. Poca cantidad de fármaco se excreta a través de los riñones y los metabolitos no tienen actividad antifúngica (Smith, 1998).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Está indicado en el tratamiento tópico de la moniliasis vaginal. Está disponible en forma de crema vaginal al 1% y tabletas vaginales de 100 mg. El clotrimazol está indicado también para las micosis superficiales, como las infecciones causadas por dermatófitos (crema al 1% y solución al 1%), para la tiña versicolor y la moniliasis. Los trociscos de clotrimazol están indicados para el tratamiento de moniliasis orofaríngea y para profilaxis contra la misma en los pacientes que presentan inmunosupresión (Lesher, 1994).

Los efectos colaterales de los preparados tópicos en general son poco importantes. La aplicación de la crema se asocia con fenómenos irritativos locales menores, incluyendo ardor, eritema o urticaria. Rara vez se ha informado alergia por contacto. Se absorben sistémicamente pequeñas cantidades luego de la aplicación en las membranas. Si bien no ha habido informes de toxicidad fetal, no está indicado el uso del fármaco durante el embarazo. Las tabletas pueden asociarse con náuseas vómitos y aumento reversible de las enzimas hepato celulares (Smith, 1997).

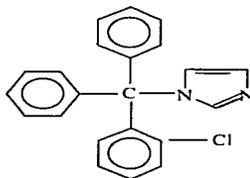


Figura 1.- Estructura molecular del Clotrimazol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. CARACTERÍSTICAS DE LA VAGINA

2.1 Aspectos anatómicos y fisiológicos de la vagina

El aparato genital de la mujer, profundamente situado en la excavación pélvica, se compone esencialmente de dos partes:

- a) De una porción glandular, los ovarios, en los cuales se forman los óvulos.
- b) De una serie de conductos que se extienden desde la vecindad de los ovarios hasta la superficie exterior del cuerpo y que toma sucesivamente los nombres de trompa de falopio, útero y vagina.

A estos órganos esenciales es preciso añadir: los órganos genitales externos o vulva, cierto número de glándulas y los músculos y los aponeurosis de la vagina.

La vulva es una estructura compleja formada por: labios mayores, pubis, labios menores, clítoris, vestibulo, meato urinario, orificio vaginal, himen y glándulas vulvovaginales o de Bartholin (Pineda, 1996).

La vagina, es un conducto musculoso membranoso que une la vulva al útero. Es el órgano de copulación en la mujer, funciona también como vía para la salida del flujo menstrual y además forma la parte interior del conducto o canal del parto. Está situada en parte, en la excavación pélvica y en parte en el propio espesor de la vulva. Tiene la forma de un cilindro aplanado de adelante hacia atrás; su longitud es por término medio de 6 a 7 centímetros. Hay que notar que las paredes vaginales son muy extensibles y además elásticas. El extremo superior, dilatándose a manera de cáliz, forma el fómix o fondo de saco, en el cual viene a insertarse el cuello del útero (Cortes, 1996; Pineda, 1996; Rivera, 1986; Testut, 1979). Ver figura 2.

La superficie interior de la vagina, presenta en ambas paredes, un sistema de pliegues transversales, que constituyen las arrugas de la vagina. La pared vaginal tiene de 3 a 4 milímetros de grueso y se compone de tres túnicas concéntricas que de fuera hacia dentro son:

Túnica conjuntiva: delgada, de color blanquecino, se confunde exteriormente con el epitelio celular de las regiones próximas, es una capa delgada de tejido conectivo denso que se continúa con los órganos vecinos (Leeson, 1984).

Túnica muscular: comprende dos planos de fibras musculares lisas, un plano superficial de fibras longitudinales que se continúan por arriba con el miometrio y un plano profundo de fibras circulares delgadas (Junqueira, 1977).

Túnica mucosa: de un milímetro aproximadamente de grueso, grisácea o ligeramente rosada (roja durante la menstruación o el embarazo), muy resistente, muy extensible y muy elástica, se compone de un corión y un epitelio pavimentoso estratificado plano, pudiendo presentar en sus células superficiales cierta cantidad de queratina, si bien no llega a haber una queratinización intensa, con transformación de células en placas de queratina, como ocurre en los epitelios queratinizados típicos. Bajo el estímulo del estrógeno, el epitelio vaginal sintetiza y acumula gran cantidad de glucógeno. El epitelio que carece de glándulas, está

TECNOLOGIA
FALLA DE ORIGEN

lubricado por moco que proviene del cuello uterino. Por abajo del epitelio hay una lámina propia y tejido conectivo denso que contiene numerosas fibras elásticas, leucocitos, polimorfonucleares y linfocitos (Testut, 1979; Leeson, 1984; Junqueira, 1977).

Abundan en la pared de la vagina los vasos sanguíneos y linfáticos. Las venas son especialmente numerosas y dan a la lámina propia el aspecto de tejido eréctil. La vagina recibe fibras nerviosas mielínicas y amielínicas. Estas últimas forman un plexo ganglionar en la adventicia e inervan la muscular y las paredes de los vasos sanguíneos. Las fibras nerviosas mielínicas terminan en receptores especiales de la mucosa (Leeson, 1984).

El estado del epitelio de la vagina depende del nivel de las hormonas ováricas en la sangre; durante la menstruación en la extensión vaginal predominan los eritrocitos y neutrófilos. Al principio del periodo menstrual (fase proliferativa del ciclo) el epitelio vaginal es comparativamente fino y en la extensión el contenido de leucocitos se reduce con rapidez y aparecen los epitelocitos. Al momento de la ovulación (en el medio del ciclo ovárico menstrual) estas células predominan en la extensión y el espesor del epitelio crece. En la fase premenstrual del ciclo la formación de las células cornificadas se reduce, pero se intensifica la descamación de los estratos alojados más abajo, cuyas células se descubren en las extensiones. Antes de comenzar la menstruación en la extensión comienzan a aparecer los eritrocitos en cantidades crecientes (Elisiev, 1985).

La vulva. Representa los órganos genitales de la mujer, la cual está situada debajo de la vagina y se compone de: 1) las formaciones labiales, o sea de los labios de la vulva, 2) espacio interlabial; 3) un aparato eréctil.

1) Formación de labiales o labios de la vulva:

Monte de Venus. Prominencia a manera de cojincillo firme de tejido adiposo, situada encima de la sínfisis del pubis y cubierta de vello, su espesor es por lo común de 2 ó 3 centímetros.

Labios Mayores. Repliegues cutáneos, que miden 7 u 8 centímetros de largo por 2 ó 3 centímetros de ancho y que ocupan la parte externa de la vulva. Gruesos firmes y resistentes en las niñas y en las mujeres vírgenes, se hacen delgados y flácidos en las mujeres de edad avanzada y enflaquecidas, la superficie interna es lisa y lampiña, La superficie externa está cubierta con epidermis cornificada que contiene numerosas glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas. El centro de cada pliegue contiene una cantidad notable de tejido adiposo (Elisiev, 1985).

Labios Menores. Son otros pliegues cutáneos, situados por dentro de los precedentes, y que miden de 30 a 35 milímetros de largo por 10 a 15 de ancho. Están cubiertos por epitelio estratificado plano y tienen un centro de tejido conectivo con gran vascularización. Aparecen glándulas sebáceas en ambas caras del pliegue, las cuales carecen de folículos pilosos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2) Espacio Interlabial:

Vestíbulo. El vestíbulo de la vagina es una hendidura entre los labios menores. En el interior de esta hendidura del vestíbulo se encuentra el himen, el orificio vaginal, el orificio uretral y los orificios de las glándulas vestibulares. El vestíbulo está tapizado por epitelio plano multiestratificado. En el vestíbulo de la vagina se abren dos glándulas vestibulares (glándulas de Bartholin). Por la forma de estas glándulas son alveolotubulares, están formadas por epitelio prismático y segregan mucosidad (Eliséiev, 1985).

El orificio uretral es una abertura de 4 a 6 mm de diámetro, localizada 2.5 cm por detrás del clitoris aproximadamente.

El orificio vaginal ocupa la porción más grande de los tercios posteriores del vestíbulo, y a ambos lados, en la parte profunda del tejido perineal, están las dos grandes glándulas vestibulares (glándulas de Bartholin). Cada una de ellas se abre por medio de un conducto lateral en un surco entre el himen y el labio menor.

Himen. Es un pliegue delgado de mucosa vascularizada que separa la vagina del vestíbulo. Puede estar completamente ausente, o al contrario, cubrir al orificio vaginal en forma parcial o completa; si cubre por completo el orificio vaginal se conoce como himen imperforado. Desde el punto de vista anatómico ni su ausencia ni su presencia pueden ser consideradas como criterio de virginidad.

3) Órganos eréctiles:

Clitoris. Es una proyección en forma de guisante, de tejido eréctil, nervios y vasos sanguíneos que ocupa el vértice del vestíbulo por delante de la vagina, consta de dos cuerpos cavernosos eréctiles, que terminan en el glande, cubierto por epitelio plano multiestratificado.

Bulbos de la vagina. Son dos, uno derecho y otro izquierdo. Cada uno de ellos mide, por término medio, 30 milímetros de largo por 15 de ancho y 8 a 10 de grueso. Tiene la forma de ovoide de base posterior, aplanado de dentro afuera, con dos caras, dos bordes y dos extremidades. El bulbo de la vagina es un órgano eréctil imperfecto, reducida a veces a una simple envoltura conjuntiva (Testut, 1979; Stanley, 1982).

La descarga vaginal normalmente presenta una mezcla de varios componentes: secreciones de glándulas de Bartholin y de Skene, trasudación de la pared vaginal, descamación de células epiteliales vaginales, mucosa cervical, fluido endometrial y tubal y leucocitos. La cantidad media de secreción vaginal producida por una mujer en edad reproductiva es de alrededor de 1-3 g/24 hrs. y esta varía de acuerdo con la edad, paridad, práctica de anticonceptivos, actividad sexual, presencia del ciclo ovulatorio y algún tipo de desorden como las infecciones del tracto genital superior. La estimulación sexual incrementa la producción de fluido vaginal como resultado de un aumento en la vascularidad y fenómeno de humedad en la vagina. El moco cervical contribuye de manera importante en la secreción vaginal, consta principalmente de agua (90-95%), componentes de bajo peso molecular tales como sales orgánicas e inorgánicas y compuestos de alto peso molecular, tales como mucinas, proteínas y macromoléculas. La producción diaria de moco varía entre 20-600 miligramos

(Cortes, 1996; Pineda, 1996). La mayoría de los constituyentes orgánicos de la secreción vaginal son proteínas, carbohidratos, urea y ácidos grasos; la mayoría de dichas proteínas son albúmina, inmunoglobulinas y aminoácidos. Todas las mujeres producen ácidos principalmente láctico y acético. Las características de la secreción normal de la vagina son:

- ❖ Color blanquecino mucosoide.
- ❖ Cantidad mínima variable.
- ❖ Consistencia flocular.
- ❖ pH menor a 4.5
- ❖ Leucocitos escasos.
- ❖ Bacilos Gram positivos
- ❖ Células epiteliales de descamación.

La vagina de la niña recién nacida es estéril, el pH de la secreción es ácido con límites entre 3.0-4.0 producto de la acción estrogénica de origen materno que es la acumulación de glucógeno en las células vaginales, facilitando la implantación de "nichos ecológicos" de bacilos de Döderlein, los cuales aparecen como primeros pobladores en promedio durante las primeras tres semanas de vida. A medida que desaparecen los efectos de la progesterona materna y el pH vaginal se hace neutro, desaparecen los bacilos de Döderlein y la vagina se adelgaza (Rivera, 1986).

En la mujer prepuber el líquido vaginal tiene un pH neutro, el epitelio vaginal consta de 6 a 8 capas de células, la descamación de los epitelios es irregular de tal manera que esa condición favorece las infecciones. La vaginitis o vulvovaginitis es propicia a esta edad, por la proximidad del ano y la uretra se facilita la contaminación fecal o urinaria directa o indirecta (Rivera, 1986).

En la adolescente llama la atención como problema fundamental la maduración del área genital y las alteraciones del ciclo menstrual. La vagina inicia el engrosamiento de la mucosa con formación de pliegues, hasta de 26 capas de células, hay cambios de pH producto de la acción de estrógenos sobre las células cargadas de glucógeno. El perfil de pH varía de 3.0-4.0, disminuyendo a nivel máximo durante la ovulación con elevaciones antes y después de la menstruación. Las alteraciones hacia la alcalinidad del pH favorece la infección debiendo considerarse en condiciones generales de pH ácido como sinónimo de normalidad y maduración de las células vaginales. Debajo de la mucosa vaginal, se encuentra la capa muscular formada por fibras circulares y longitudinales. La vagina en estas condiciones rige el equilibrio de la flora de colonización normal por el pH, la descamación epitelial, la eliminación constante de las dendritas y la presencia del sistema fagocítico mononuclear. Algunos autores convienen que el mecanismo preventivo de la implantación de gérmenes patógenos se debe a la oxidación de los carbohidratos principalmente el glucógeno y por lo tanto acidificando el flujo vaginal por los bacilos de Döderlein (Rivera, 1986).

En la mujer sexualmente madura la vagina es ácida, con flora resistente al pH ácido de la vagina, principalmente el bacilo de Döderlein y su epitelio vaginal tiene un espesor de varias capas (Rivera, 1986).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la menopausia la vagina se adelgaza, pierde su elasticidad, se torna atrófica, aumentando su pH 5.0-7.0 y hay insuficiencia en las estructuras del sostén urogenital lo que propicia las infecciones (Rivera, 1986).

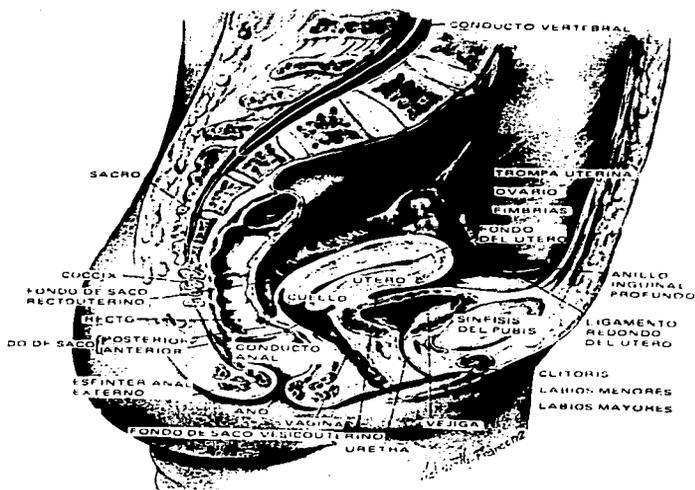


Figura 2.- Esquema de la vagina humana.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.2 FLORA NORMAL DEL CUERPO HUMANO

La piel y las mucosas hospedan siempre a una gran variedad de microorganismos, los cuales pueden dividirse en dos grupos: 1) La flora residente está compuesta de tipos relativamente fijos de microorganismos, los cuales se encuentran constantemente en un sitio dado a una edad dada; si se le trastorna, se restablece espontáneamente con rapidez; 2) La flora transitoria está formada por microorganismos no patógenos o sólo potencialmente patógenos hospedados en la piel o las mucosas durante horas, días o semanas, provienen del ambiente, no producen enfermedad y no se establecen por sí mismos permanentemente sobre la superficie. Los miembros de la flora transitoria son generalmente de poca significancia en tanto que la flora residente sufre alteraciones, los microorganismos transitorios pueden colonizar, proliferar y producir enfermedad.

Los microorganismos que están siempre presentes en la superficie del cuerpo son comensales. El hecho de que prosperan en un área determinada depende de factores fisiológicos como la temperatura, la humedad y la presencia de determinados nutrimentos y substancias inhibitorias. La flora residente de algunos sitios desempeña un papel definido en el mantenimiento de la salud y de las funciones normales. Por otro lado, los miembros de la flora normal pueden por sí mismos causar enfermedad bajo ciertas condiciones; si son removidos violentamente de las restricciones que tal ambiente les impone y son introducidos a la circulación sanguínea o a los tejidos, estos organismos pueden volverse patógenos. Los miembros de la flora residente que se encuentran en procesos patológicos son en ocasiones denominados "oportunistas" (Jawetz, 1985).

2.3 FLORA NORMAL DE LA VAGINA

La flora que coloniza habitualmente el tracto genital en la mujer se encuentra confinada a tres sitios anatómicos bien específicos: genitales externos, vagina y cervix. El resto de los órganos del tracto genital normalmente son estériles y la presencia en ellos de cualquier microorganismo es patológico. La flora bacteriana normal puede modificarse por diversos factores como la edad, costumbres sexuales, hábitos higiénicos y del vestido, lesiones y alteraciones en la estructura del aparato genital debido al uso de antisépticos e irrigaciones vaginales con diversos productos, uso de toallas sanitarias y tampones, consumo de anticonceptivos hormonales de barrera y por la administración de antibióticos sistémicos.

Poco después del nacimiento aparecen en la vagina lactobacilos aerobios (bacilo de Döderlein), es un bacilo delgado Gram positivo, obtiene su energía por fermentación de glucógeno que procede de células epiteliales desintegradas, los cuales persisten mientras el pH permanece ácido (varias semanas). Cuando el pH se hace neutro (permaneciendo así hasta la pubertad), la flora está compuesta de una mezcla de cocos y bacilos. El ácido láctico producido por desdoblamiento del glucógeno abate el pH vaginal, que llega en el momento de mayor actividad progesterónica (vigésimo tercero o vigésimo cuarto día de un ciclo normal) a 4.2 o

4.5 y durante el embarazo oscila entre 3.8 y 4.4. Este parece ser un mecanismo importante en la prevención del establecimiento de otros microorganismos potencialmente perjudiciales en la vagina. Si los lactobacilos son suprimidos por la administración de medicamentos antimicrobianos, las levaduras o diversas bacterias aumentan en número, provocando irritaciones e inflamaciones.

Las mujeres prepúberes y posmenopáusicas albergan sobre todo estafilococos y corinebacterias, mientras que las mujeres de edad fértil pueden presentar un gran número de bacterias facultativas como enterobacterias, estreptococos, cocos y bacilos no esporulados anaerobios y clostridios. La cantidad de la flora anaerobia permanece invariable durante todo el ciclo menstrual. Aunque algunas levaduras pueden ser recuperadas transitoriamente del tracto vaginal, no forman parte de la flora normal del tracto genital femenino. Existe cierto grupo de microorganismos que pueden aislarse de los genitales femeninos sin que haya sintomatología en las pacientes: *Mycoplasma hominis*, *Ureoplasma urealyticum*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* y *Gardnerella vaginalis*, los cuales ciertamente son patógenos potenciales pero también llegan a contribuir en la flora normal en porcentaje nada despreciable de la población abierta sana (Jawetz, 1985; Pineda, 1996).

El moco cervical tiene actividad antibacteriana y contiene lisosimas. En algunas mujeres el introito vaginal contiene una flora intensa que se parece a la del perineo y región perineal. Este puede ser un factor predisponente en las infecciones urinarias recurrentes. Los organismos vaginales presentes al momento del nacimiento pueden infectar al recién nacido (por ejemplo, estreptococos del grupo B) (Jawetz, 1985).

La vaginitis es uno de los problemas más comunes en medicina clínica y es una de las razones más frecuentemente citadas en las consultas a ginecólogos y obstetras. Las tres principales causas de vaginitis son: candidiasis, tricomoniasis y vaginosis bacteriana (Cortes, 1996). Las infecciones vaginales tales como tricomoniasis y candidiasis generalmente inducen una respuesta inflamatoria en la pared vaginal y están usualmente acompañadas por un incremento en el número de leucocitos en el fluido vaginal, no así la vaginosis bacteriana que está acompañada por un cambio en la flora vaginal y no está caracterizada por una respuesta inflamatoria. Esta infección ha sido alternativamente referida como vaginitis "no específica" y vaginosis bacteriana (Cortes, 1996).

La flora vaginal normal está dominada comúnmente por lactobacilos, en contraste con la flora vaginal de mujeres que presentan vaginosis bacteriana y está conformada por una combinación de bacterias aeróbicas, anaeróbicas facultativas, anaeróbicas tolerantes a oxígeno y estrictamente anaeróbicas (Cortes, 1996).

TRIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. FENOMENO DE PERMEACIÓN

Debido a que en las ciencias farmacéuticas la difusión libre o transporte pasivo a través de sólidos, líquidos y membranas representa un proceso de considerable importancia, es necesario estudiar este fenómeno para conocer su comportamiento y las condiciones que lo afectan. La permeación es la capacidad de penetración de moléculas principalmente a través de cuerpos sólidos (barreras biológicas o artificiales). El pasaje de materia a través de un cuerpo, se lleva a cabo por simple difusión molecular y/o mediante el paso de ésta a través de poros y canales. Para el primer caso, ha de cumplirse con una premisa, la molécula a permear debe estar disuelta en la barrera (membrana, líquido o sólido). El segundo caso puede involucrar el pasaje de la sustancia por la afinidad de ésta con el solvente y es influenciado por los tamaños tanto de las moléculas, como de los poros.

3.1 PERMEACIÓN A TRAVÉS DE MEMBRANAS

La liberación de medicamentos a partir de su forma medicamentosa puede estudiarse mediante procedimientos itálicas. Estos procedimientos posibilitan el estudio de los fenómenos que ocurren entre la aplicación y el efecto medible farmacológica o clínicamente y la comprensión de su desarrollo. En los métodos itálicas hay que distinguir entre aquellos en los que el medicamento difunde, a partir de la forma medicamentosa, y aquellos en los que el medicamento pasa, mediante difusión a través de una membrana. Como líquidos de ensayo para pruebas itálicas, se utilizan: jugo gástrico artificial (que puede contener adiciones de fermentos, sustancias que aumentan la viscosidad o humectantes), soluciones tampón (por ejemplo buffer de fosfatos), soluciones simples (por ejemplo, NaCl, NaOH, Na_2CO_3) y agua. La liberación de medicamentos conseguida mediante métodos itálicas, permite establecer conclusiones sobre la velocidad de disolución de un medicamento, su difusión en el vehículo y en el medio de ensayo y, dado el caso, sobre su paso a través de membranas. Una membrana de origen artificial o natural, sirve frecuentemente, en las normas de investigación, como sustitutivo de la membrana celular humana (Voigt, 1982). Algunos ejemplos de materiales de membrana son:

Membrana de origen natural:

- ✓ Vejiga de oveja
- ✓ Intestino ciego de cordero.
- ✓ Mucosa de la vejiga de cerdo.
- ✓ Piel de cerdo.
- ✓ Diafragma de vaca.
- ✓ Piel de conejo.
- ✓ Membranas del huevo.
- ✓ Intestino delgado.
- ✓ Mucosa vaginal de cordero.
- ✓ Mucosa vaginal de conejos.

TESTS CON
FALLA DE ORIGEN

Membranas de origen artificial:

- ✓ Gelatina.
- ✓ Lecitina-colodión.
- ✓ Acetato de celulosa.
- ✓ Triacetato de celulosa.
- ✓ Nitrató de celulosa.
- ✓ Acetilbutirato de celulosa
- ✓ Celulosa regenerada (celofán® , vidrio de celulosa).
- ✓ Poliamida.
- ✓ Cloruro de polivinilo.
- ✓ Polipropileno.
- ✓ Tereftalato de polietileno.
- ✓ Polimeros de dimetilsiloxano
- ✓ Membranas recubiertas, lipoideas.

Los ensayos itálicas permiten juzgar comparativamente distintos preparados que proporcionen diversos cursos de cesión del medicamento, y posibiliten establecer una clasificación en este sentido. Los ensayos itálicas sirven también para clarificar problemas de conservación, así como también dan valores con buena reproducibilidad, con un margen de error entre 5 y 10% y tienen una gran importancia para la optimización de formas medicamentosas (Voigt,1982). La cesión de sustancia activa se basa, esencialmente, en fenómenos de difusión.

Se han realizado varios estudios a través de membrana vaginal en las cuales se ha utilizado discos de 4 cm de diámetro para las celdas de difusión llamadas Valia-Chien; así como también se han utilizado diferentes fármacos como el 9 nonoxinol derivados del Dihidrofusidato como: dihidrofusidato de fosfato, taurohidrofusidato de sodio y glico-dihidrofusidato de sodio, solución isotónica 10%, buffer de fosfatos, derivados de la progesterona (mono-hidroxi, di-hidroxi y tri-hidroxi.).

3.2 CONCEPTO DE DIFUSIÓN A TRAVÉS DE LA MEMBRANA

La difusión está definida como un proceso de transferencia de masa de moléculas individuales de una sustancia debido a un movimiento molecular al azar y asociado con un gradiente de concentración . El paso de materia a través de una barrera puede ocurrir por simple permeación molecular o por movimientos a través de los poros y canales, lo cual depende a su vez del tamaño de las moléculas, del tamaño de los poros o canales, de la presencia de cargas electrostáticas tanto en la molécula como en la membrana (Tapia,1994).

Existen condiciones "no-sink" (del inglés "sink" = desagüe, sumidero), cuando la concentración del medicamento en el volumen de distribución correspondiente a su dilución, aumenta hasta superar el 15% respecto de la solubilidad. Por lo contrario existen condiciones "sink" cuando la concentración del medicamento en el volumen de distribución se mantiene abajo de este nivel (Voigt,1982).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.3 LEY DE DIFUSIÓN DE FICK

La Ley de Difusión de Fick proporciona la base de las diversas condiciones de difusión. La velocidad de difusión, o la cantidad de sustancia que en un periodo infinitesimal de tiempo pasa a través de una superficie medida dadas, es proporcional a la superficie de exposición y al gradiente instantáneo de concentración (Voigt, 1982):

$$J = \frac{dM}{S \cdot dt} \quad (1)$$

Donde J es la cantidad de materia (M) que fluye a través de una membrana por unidad de tiempo. Cuando el flujo (J) es proporcional al gradiente de concentración Tenemos:

$$J = -D \frac{dC}{dX} \quad (2)$$

Donde D es el coeficiente de difusión. Igualando ambas ecuaciones tenemos:

$$J = \frac{dM}{S \cdot dt} = -D \frac{dC}{dX} \quad (3)$$

En condiciones pseudoestacionarias en el intervalo $X_2 - X_1$ se puede considerar que $dC = C_1 - C_2$, donde C_1 representa la concentración del soluto en la membrana adyacente al componente donador; mientras que C_2 representa la concentración del soluto en la membrana adyacente al compartimento receptor.

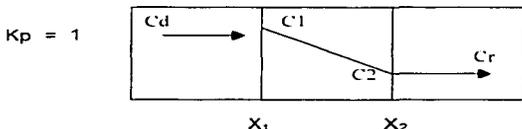


Fig. 3.- Representación esquemática del perfil de concentración de un soluto que se encuentra difundiendo a través de una membrana.

Sustituyendo queda :

$$J = \frac{dM}{S \cdot dt} = -D \frac{(C_1 - C_2)}{X_1 - X_2} \quad (4)$$

Pero como no se conoce la C_2 y C_1 existente en la membrana, se sustituye por concentraciones conocidas como son la del donador (C_d) y el receptor (C_r). Y como dichas concentraciones están relacionadas con el coeficiente de distribución o partición (K_p)

$$K\rho = \frac{C_1}{C_d} = \frac{C_2}{C_r} \quad (5)$$

Sustituyendo (5) en (4) queda:

$$\frac{dM}{dt} = DK\rho S \frac{(C_d - C_r)}{\Delta x} \quad (6)$$

Al manejar condiciones sink nos queda:

$$\frac{dM}{dt} = DK\rho S \frac{C_d}{h} \quad (7)$$

En este caso la permeación (P) se sustituye por : DK\rho/h

$$dM = PSC_d dt \quad (8)$$

Integrando:

$$M = PSC_d t \quad (9)$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.4 CELDAS DE DIFUSIÓN

Quando se desea investigar itálicas el transporte de sustancias a través de una membrana implica la construcción de un sistema difusional adecuado . Se encuentran disponibles comercialmente, o bien están reportadas en la literatura, gran variedad de sistemas difusionales que han sido desarrollados para usarse con membranas de diferente naturaleza, pero a pesar de que algunas se han diseñado para estudios similares, su diversidad es notable .

Las celdas de difusión tienen elementos comunes: dos cámaras o compartimentos, uno conteniendo el agente activo (vehículo donador) y el otro conteniendo una solución receptora agitada (compartimiento receptor), separadas por una pieza de piel u otro tipo de membrana.

Una clave concerniente en el uso de celdas de difusión es si hay agitación suficiente para prevenir concentraciones locales de fármacos y para minimizar capas de difusión estáticas . Por otra parte el mantener condiciones "sink" durante todo el experimento genera un perfil de permeación como el de la ecuación (9), el cual es matemáticamente sencillo de trabajar.

La agitación o mezclado es más comúnmente llevada a cabo por barras de agitación magnética; sin embargo, un diseño adecuado de agitación en celdas de difusión puede ser un problema en varios tipos de celdas. El control de la temperatura ha sido realizado usando chaquetas de agua o simplemente sumergiendo la celda entera en baño de agua o arena. Gradientes de temperatura pueden ser introducidos si el borde de la membrana no es adecuadamente calentado; tales gradientes de temperatura podrían ser agravados por sistemas de agitación incompleta del fluido. Sin embargo, pequeñas variaciones en la temperatura es posible que no afecten significativamente las velocidades relativas de penetración (Tapia,1994).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.5 CLASIFICACIÓN DE LAS CELDAS DE DIFUSIÓN

Aún cuando las celdas son muy diversas se pueden clasificar con base en su similitud del tamaño del compartimiento y geometría. A causa de la idiosincrasia asociada con la ubicación de la membrana, es posible una subclasificación de los sistemas conforme a la colocación de la membrana, es decir, horizontal y vertical (Tapia,1994).

3.5.1 CELDAS DE DIFUSIÓN HORIZONTAL

Las celdas de difusión horizontal usualmente comprenden dos cámaras o compartimentos: donador (Cd) y el receptor (Cr). El primero contiene el difusante en solución y el segundo a la solución receptora. Estas dos cámaras están separadas por una membrana. Uno de los problemas con este tipo de celdas es obtener una agitación adecuada. El contenido de una o ambas cámaras puede ser agitado para asegurar la dispersión adecuada de las moléculas del fármaco y para minimizar las capas de difusión estáticas. Una de las ventajas con este tipo de celdas es que la agitación puede obtenerse utilizando una barra de agitación magnética o bien utilizar una propela adaptada a un agitador que permita alcanzar la velocidad de agitación deseada. Otro problema que puede encontrarse es la formación de burbujas de aire sobre la superficie de la membrana, sobre todo a temperaturas elevadas, lo cual puede ser controlado con una agitación adecuada (Tapia,1994). Este tipo de celdas es posible subclasificarlas en celdas de difusión horizontal estática y de flujo continuo. La diferencia es que en la segunda subclasificación la solución de la fase receptora va cambiando constantemente permitiendo mantener condiciones "sink" durante todo el experimento (Tapia,1994).

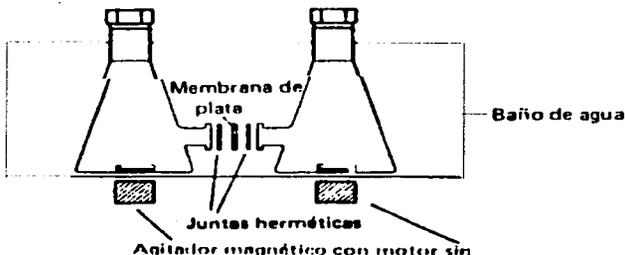


Figura 4.- Celdas de difusión horizontal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.5.2 CELDAS DE DIFUSIÓN VERTICALES

Las celdas de difusión verticales han sido diseñadas para imitar las condiciones itálicas. Se utilizan principalmente para estudios de permeación y evaporación en piel. Los sistemas que muestran condiciones semejantes a las encontradas itálicas son normalmente verticales con la cámara inferior diseñada para contener el flujo receptor. La solución de la cámara inferior es reciclada para procurar mantener condiciones "sink" durante todo el experimento. Una ventaja de los diseños de celdas verticales es la capacidad para variar la naturaleza del vehículo donador. Es posible también manejar experimentos de dosis finitas e infinitas. Dentro de este tipo de celdas se conocen dos tipos, al igual que las celdas de difusión horizontal: estáticas y de flujo continuo. Ambos tipos de celdas verticales presentan baja o incompleta agitación de la fase receptora y por otra parte el volumen de la misma fase receptora es algunas veces grande y requiere de un mayor muestreo de alícuotas por lo que se ve incrementado el tiempo de operación y error. En cuanto al gran volumen utilizado, este podría ser deseable para proveer condiciones "sink" en la fase receptora, sin embargo, en el flujo continuo tales volúmenes grandes son indeseables. La principal desventaja parece estar en la habilidad para agitar dichos volúmenes rápida y uniformemente (Tapia,1994).

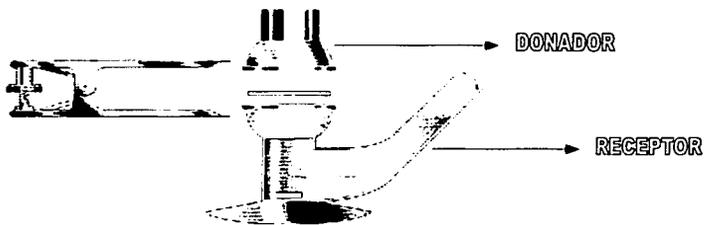


Figura 5.- Celda de difusión tipo Franz

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. MODULADORES DE PERMEACION

En esta denominación se agrupa una serie de sustancias que son capaces de modificar la permeabilidad de los fármacos que llevan disueltos. Cabe señalar que hace años se conocían estas cualidades para varios solventes lipofílicos. Machit (1938) fue el primero en hacer un estudio sistémico del asunto, demostrando que numerosas esencias (canela, clavo, hinojo, limón, naranja, menta, tomillo) que actúan como solventes de fármacos y tóxicos incrementaban de forma notoria el pasaje. Valette (1945) extendió esos estudios al eucalipto y al p-cimeno. El hecho que solventes industriales tales como el tetracloruro de carbono, benceno, etc., fueran capaces de provocar intoxicaciones en los obreros, por absorción percutánea, han llevado a la noción de acelerante o promotor.

En algunas formas medicamentosas intervienen en el vehículo coadyuvantes que influyen en gran medida en la liberación y absorción del medicamento. Pueden citarse al respecto: disolventes intermediarios de la disolución, humectantes, emulgentes, conservadores, antioxidantes, etc. Algunos de estos pueden actuar como sustancias de transporte que llevan a los medicamentos disueltos hacia los vasos sanguíneos. Los agentes tensoactivos, empleados a la concentración adecuada, aumentan la absorción de diversos medicamentos, por disminuir la tensión superficial, mejorando la humectación de la piel o por mecanismos de solubilización. Por otra parte pueden formar complejos con el medicamento produciendo entonces una disminución de la absorción. A tales sustancias se les designa con el nombre de mediadores de la absorción o moduladores de absorción (Voigt, 1982).

4.1 DEFINICIÓN DE PROMOTOR DE PERMEACIÓN.

Un promotor de absorción o permeación es aquella sustancia que provoca cierto incremento en la permeación membranal de una sustancia. Un punto importante es la consideración de que estas sustancias deben disminuir de manera reversible la barrera de permeabilidad. La efectividad de las sustancias promotoras depende tanto de sus propiedades fisicoquímicas como de las del fármaco, del sitio de administración (grosor de membrana, morfología celular, actividad enzimática, composición lipídica y proteínica, factores estructurales y funcionales), de la naturaleza del vehículo en el que se administre el fármaco-promotor, etc. Se considera que un promotor de absorción, debe poseer características ideales, tales como: (Ganem, 1998)

- ┆ No tóxico.
- ┆ No provocar alergias.
- ┆ Compatible con los componentes de la formulación.
- ┆ Farmacológicamente inerte.
- ┆ Incoloro e inodoro.
- ┆ No irritante.
- ┆ De acción rápida y reversible.
- ┆ Tener absorción rápida y nula.
- ┆ Químicamente estable e inerte.
- ┆ Tener una absorción sistémica mínima.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.2 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROMOTORES DE PERMEACIÓN.

Existen algunas propuestas sobre el mecanismo de acción de los moduladores de permeación.

1. Cambio reológico del moco.
2. Incremento de la fluidez de las bicapas lipídicas de la membrana. Como el transporte intercelular es la ruta más probable para la absorción de fármacos, la disrupción del paquete lipídico intercelular provoca un incremento en la permeabilidad. Este incremento de la fluidez puede atribuirse a que los lípidos sufren una transición de una fase gel (rígida) a una fase líquido cristalina con una disminución de la temperatura de transición vítrea (T_m).
3. Extracción de los lípidos intercelulares. Esto es particularmente importante en el caso de la mucosa intestinal en donde las uniones constituyen la barrera de permeación.
4. Alteración de la barrera enzimática. En ésta categoría están representados principalmente los promotores que actúan como inhibidores proteolíticos para las endo y éxo-peptidasas, esto hace posible que el fármaco penetre debido a una actividad proteolítica deficiente.
5. Incremento de la actividad termodinámica del fármaco, la cual puede ser afectada por la composición del vehículo, la cual va a influir directamente en la solubilidad del penetrante. Una forma de aumentar el coeficiente de partición es utilizando un sistema saturado (Ganem, 1998).

Además de los mecanismos de acción de los agentes promotores, resulta importante mencionar las posibles rutas de acceso celular de las sustancias exógenas. En la literatura se mencionan dos:

1. La ruta intercelular, es el camino que siguen las sustancias exógenas entre las células.
2. La ruta transcelular es el camino a través de las células de la mucosa. Sin embargo actualmente existe suficiente evidencia para asegurar que la mayoría de las sustancias penetran por vía intracelular.

4.3 EJEMPLOS DE PROMOTORES DE PERMEACIÓN

4.3.1 *Disolventes orgánicos:*

Algunos ejemplos son: Acetona, Etanol, Éter etílico, Etilenglicol, Benzol, Cloroformo, Dimetilacetamida, Dimetilformamida, Dimetilsulfóxido, Polietilenglicol, Propilenglicol, Tetrahidrofurfurilalcohol (Voigt, 1982).

4.3.2 *Alcoholes grasos, ésteres de alcoholes grasos:*

- Ester oléico del ácido oléico.
- Ester decílico del ácido oléico.
- Ester hexílico del ácido láurico.
- 2-octilododecanol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Ester de alquilo ramificado de ácidos grasos con punto de solidificación bajo.
- Mezcla de triglicéridos de ácidos grasos, vegetales saturados.
- Mezcla de ésteres de ácidos dicarboxílicos alifáticos.
- Isopropiléster del ácido mirístico.
- Ester isopropílico del ácido palmítico (Voigt, 1982).

4.4 CLASIFICACIÓN DE LOS PROMOTORES DE PERMEACIÓN

Como hoy en día existe una gran variedad de moduladores de permeación éstos se han clasificado de acuerdo a las características de los mismos.

4.4.1 De acuerdo a su polaridad:

- No polar (Azona,®, ácido oléico)
- Baja polaridad (Dimetilsulfóxido, dimetilformamida, pirroilidonas)
- Polaridad media (Dimetilsulfóxido)
- Alta polaridad (Propilenglicol)

4.4.2 Clasificación de los promotores de acuerdo a su naturaleza química (Ganem, 1998).

a).- Solventes:

- Agua
- Alcoholes (metanol, etanol)
- Alquilmetsulfóxido (Dimetilsulfóxido, dimetilformamida).
- Pirroilidonas (2-pirroilidona, N-metil-2-pirroilidona).
- Azona y derivados.
- Otros (propilenglicol).

b).- Surfactantes:

- Aniónicos (Dodecilsulfato de sodio).
- Catiónicos (Bromuro de cetiltrimetilamonio).
- No iónicos (Tweens, Brij, poloxameros).
- Ácidos grasos y alcoholes grasos (Ácido oléico, láurico)

c).- Otros:

- Urea.
- Terpenos y aceites esenciales (Mentol, limoneno).
- N,N-dietil-m-toluidina.
- Tioglicolato de calcio.
- Ciclodextrinas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.5 PROMOTORES DE PERMEACIÓN UTILIZADOS.

4.5.1 AZONA® (laurocapram)

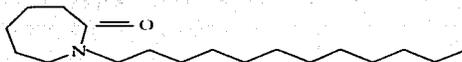


Figura 6.- Estructura molecular de la Azona

El laurocapram o también nombrado como 1-dodecilhexahidro-2H-azepin-Zona, 1dodecilazacicloheptan-2-ona ó N-dodecil- ϵ -caprolactam es un líquido incoloro derivado del caprolactam, tiene un peso molecular de 281.49, punto de ebullición 160°, punto de fusión -7°, y densidad de 0.91. Es insoluble en agua y muy soluble en solventes orgánicos (Rosendo, 1999).

Esta sustancia fue desarrollada específicamente para aumentar la permeabilidad de la piel y con ello la absorción de fármacos. Su mecanismo de acción no está ligado a la reducción de la resistencia eléctrica del tejido, sino a la formación de regiones fluidas, debido a la inserción de moléculas de Azona® en los lípidos intercelulares. Se ha propuesto que la Azona® se inserta entre dos moléculas de lípidos, formando puentes de hidrógeno con una de las moléculas y dejando la otra libre, lo cual da origen a una región fluida que favorece el paso de fármacos. Estudios de microscopía electrónica de barrido demuestran un aumento en la fluidez de las células y un incremento en los espacios intercelulares del estrato corneo cuando el tejido es tratado con este compuesto (Ganem-Quintanar, 1997). Con respecto a su toxicidad se menciona que derivados de la Azona® producen daño a cultivos de células epiteliales humanas cuando su molécula posee cadenas de 2 a 8 carbonos y que al aumentar su tamaño (14 carbonos) decrece su toxicidad.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.5.2 PROPILENGLICOL

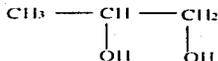


Figura 7.- Estructura molecular del propilenglicol

Propiedades. Se presenta como un líquido claro, incoloro, de sabor ardiente, agrídulce, sin olor aparente a temperatura ambiente, pero con ligera fragancia si se le entibia. Es muy higroscópico y expuesto a las condiciones ambientales, absorbe agua atmosférica. El propilenglicol se mezcla con agua, acetona y cloroformo en todas las proporciones. La estabilidad química del propilenglicol en las condiciones normales de manejo, es buena, aunque a altas temperaturas es oxidable y también deshidratable (Remington, 1998).

Usos Farmacéuticos. Debido a su poder solvente, capacidad humectante, bajo punto de congelación y atoxicidad en condiciones normales de manejo, le han dado mérito para un amplio uso en la industria Farmacéutica, Cosmética y tecnología del alimento. Principalmente en las formulaciones dermatológicas, se han examinado las interacciones de esta sustancia con piel y tejido epitelial mediante DSC y en estudios de permeación. Se ha encontrado que el propilenglicol es un agente promotor de absorción y puede actuar sinergizando la acción si se aplica conjuntamente con otros promotores (Azona y ácido oléico). Cuando es aplicado individualmente hidrata completamente el tejido, lo cual no incrementa la penetración de fármacos por esta acción, sin embargo podemos recordar que cantidades excesivas de agua presentan funciones de promoción de permeación. Si se usa propilenglicol combinado con otro agente promotor (Azona), el propilenglicol entra en el tejido y promueve la difusión intercelular del fármaco, más que el agua. Similarmente al aumentar el poder de solventes polares, el propilenglicol actúa como agente de penetración, promoviendo la participación del fármaco en el interior del tejido epitelial, provocando altos flujos (Barry, 1987).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.5.3 DERMAC SR-38 (4 deciloxazolidin2-ona)

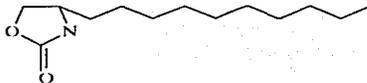


Figura 8.- Estructura molecular del Dermac SR -38

Fórmula empírica: $C_{11}H_{25}NO_2$. Peso molecular: 227.34. Es un cristal sólido inodoro y blanco, con punto de fusión de 32-33°C, de propiedades emolientes sobre la piel, altamente estable en solución, muy soluble en vehículos lipofílicos (aceite mineral, aceite de maíz, de algodón, aceite de sésamo, ésteres de ácidos grasos, entre otros), moderadamente soluble en vehículos polares (polietilenglicol 400, etanol, etilacetato, acetona y glicoles) pero insoluble en agua; reduce la tensión superficial del agua y facilita el mojado y extensión de formulaciones de base acuosa sobre la piel, es compatible con aceites esenciales (terpenos y fragancias). Posee un valor de la escala de HLB de 10, lo que ofrece gran ventaja en su utilización para preparar emulsiones o/w. Su estructura es semejante a algunos surfactantes no iónicos, consta de una cabeza polar pentacíclica y una cadena alquil lipofílica de 10 carbonos (Vithal, 1996).

4.5.4 ETANOL

Descripción. Líquido transparente, incoloro, móvil y volátil, de olor escaso pero característico y sabor quemante que hierve a 78° pero se volatiliza incluso a temperatura baja y es inflamable; el alcohol puro es neutro para todos los indicadores; densidad a 15.56°, no mayor de 0.816 lo cual indica que no contiene menos del 92.3% de C_2H_5OH en peso ni menos del 94.9% en volumen. Miscible en agua, acetona, cloroformo, éter y muchos otros disolventes orgánicos.

Incompatibilidades. El alcohol y los preparados que contienen un alto porcentaje de alcohol precipitan a muchas sales inorgánicas que están en solución acuosa. La acacia suele precipitar en medios hidroalcohólicos cuando el contenido de alcohol es mayor de un 35%.

Usos. En farmacia principalmente como disolvente. También se emplea como punto de partida en la fabricación de muchos compuestos importantes como el éter, cloroformo, etc. Además el alcohol se utiliza como combustible, en particular en forma desnaturalizada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como el alcohol es un depresor del sistema nervioso central se ha administrado a veces por via intravenosa para sedación preoperatoria y postoperatoria en pacientes en los cuales otras medidas son ineficaces o están contraindicadas. El alcohol se usa para bañar la piel con la finalidad de refrescar y reducir las fiebres. El alcohol al (5%) se usa en lociones astringentes y anhidróticas para evitar la sudoración. En una concentración del 60 a 90% el alcohol es germicida. A una concentración óptima (70% en peso) es un buen antiséptico (Remigton, 1998).

La función del etanol como promotor se atañe al cambio de conformación de las proteínas o a la desnaturalización de las mismas y a la extracción de los lípidos. El etanol puede ser influenciado por las propiedades fisicoquímicas del soluto, así como por la solubilidad en el vehiculo y el cambio del coeficiente de partición en la membrana. La cantidad de etanol en el vehiculo puede favorecer el pasaje de solutos iónicos o pares de iones (Ganem, 1997).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II. OBJETIVOS

GENERAL

- ✓ Evaluar el efecto de diferentes moduladores de permeación sobre el transporte del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo.

PARTICULAR

- ✓ Realizar estudios de permeación de clotrimazol a través de membrana vaginal empleando celdas de difusión tipo Franz.
- ✓ Comparar el efecto de Azona, Dermac y una mezcla Etanol-agua sobre el flujo del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo.
- ✓ Determinar cuál de los moduladores de permeación es el más conveniente para ser utilizado en productos farmacéuticos vaginales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAL Y EQUIPO

3.1.1 MATERIAL:

- ❖ Material de vidrio en general.
- ❖ Celdas de difusión tipo Franz.
- ❖ Celdas de cuarzo.
- ❖ Membrana vaginal de cerdo.
- ❖ Equipo de disección.
- ❖ Micropipeta.

3.1.2 EQUIPO:

- ❖ Espectrofotómetro UV-Vis., (Cary IE, Varian)
- ❖ Baño maria con agitación. (multi15 Stirrer)
- ❖ Balanza analítica (E. mettlor Zurich)

3.1.3 REACTIVOS:

- ❖ Clotrimazol grado reactivo (Sigma Chem.Co., st Louis MO, USA)
- ❖ Etanol grado reactivo (Fermont, Químicos Monterrey)
- ❖ Azona (Nelson Research. Irvine, C.A)
- ❖ Propilenglicol (J:T: Baker, USA)
- ❖ Dermac SR-38 (PCTI USA)
- ❖ (SSF) Agua destilada y Cloruro de sodio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 DETERMINACIÓN DE LA λ DE MÁXIMA ABSORCIÓN DEL CLOTRIMAZOL EN MEZCLA ETANOL-AGUA (30:70)

Se preparó una solución de Clotrimazol de 10 μ g/ml utilizando como medio de disolución una mezcla etanol-agua en proporción 30:70, se dejó en agitación por 24 horas, luego se sedimentó 24 horas y por último se realizó el barrido de 320 a 400nm.

3.2.2 SOLUBILIDAD EN ETANOL-AGUA (30:70)

Sé pesaron 10mg de Clotrimazol, se agregaron 3ml de etanol y se llevó a volumen de 10ml con agua destilada, dejándose en baño maría con agitación a 37°C por 48 horas, después se dejó en reposo por 24 horas y se realizaron diluciones de 5:25ml ó 2:10ml. Por último se tomó su absorbancia a 216nm. El ensayo se realizó por triplicado.

3.2.3 ESTABILIDAD EN ETANOL-AGUA (30:70)

Fueron pesados 10mg del principio activo, los cuales se disolvieron con 30ml de etanol y se llevó a volumen de 100ml con agua destilada. Luego se tomó una alícuota de 5ml llevándose a volumen de 25ml con mezcla (30:70), obteniéndose una concentración de 6 μ g/ml la solución se mantuvo a 25°C en viales de color transparentes y sin agitación a la cual se determinó su absorbancia cada 24 horas hasta las 120 horas.

3.2.4 CURVA DE CALIBRACIÓN EN ETANOL-AGUA (30:70)

Se pesaron 10mg de Clotrimazol los cuales se disolvieron en la mezcla etanol-agua (30:70) hasta un aforo de 100ml, se tomó una alícuota de 10ml y se llevó al aforo de 50ml. A partir de esta última solución se prepararon diferentes concentraciones: 2, 4, 6, 8 y 10 μ g/ml a las cuales se les tomó su absorbancia a 216nm. El ensayo se realizó por triplicado.

3.2.5 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN SATURADA CON MEMBRANA

Sé cortó un área de exposición de membrana vaginal de acuerdo a la cantidad de disolvente que se requería, esta fue lavada con (SSF) por unos minutos y luego se enjuago con SSF, posteriormente se colocó en la mezcla etanol-agua (30:70) por una hora, inmediatamente después la membrana se retiró y la solución se filtró al vacío quedando lista. Este sistema solvente se utilizó en los estudios de permeación, para determinar la solubilidad (solubilidad con solución saturada) y para la preparación de las curvas de calibración (curva de calibración con solución saturada).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2.6 SOLUBILIDAD CON SOLUCIÓN SATURADA

Fueron pesados 10mg de Clotrimazol a los cuales se les adicionaron 10ml de mezcla saturada; se dejó en baño maría con agitación a 37°C por 24 horas, después se dejó reposar 24 horas y enseguida se realizaron diluciones de 5:25ml a las cuales se les tomó su absorbancia a 216nm. Se realizó por triplicado.

3.2.7 CURVA DE CALIBRACIÓN CON SOLUCIÓN SATURADA

Primero se pesaron 10mg del principio activo, los cuales se disolvieron en 30ml de etanol y se llevaron a volumen de 100ml con agua destilada. Posteriormente se tomó una alícuota de 10ml la cual se llevó a un volumen de 50ml con mezcla saturada. A partir de dicha solución se prepararon por triplicado diferentes concentraciones: 2, 4, 6, 8 y 10µg/ml a las cuales se les tomó su absorbancia a 216nm.

3.2.8 OBTENCIÓN DE LA VAGINA

La vagina de cerdo se obtuvo de un expendio de carne, donde previamente se encargó; ésta se conservó en congelación. Primero se quitó toda la grasa y posteriormente se cortó la membrana lo más delgado posible, durante éste paso se hidrató la membrana con SSF, cuando ya se tenía la membrana ésta se enjuago con suficiente SSF hasta que ya no tuviera sangre, por último se colocaron en papel aluminio bien identificadas y se congelaron hasta ser utilizadas.

3.2.9 PERMEACIÓN ETANOL-AGUA

Sé cortó la membrana a la medida de las celdas (área), tratando que el grosor fuese lo más delgado posible, se enjuagó con suficiente SSF. Luego las membranas se colocaron en las celdas. Fue agregado 1.5ml de mezcla etanol-agua (30:70) en el donador y 1.8ml en el receptor dejándose reposar por 20 minutos en baño maría con agitación a 37°C, después de ese tiempo se desechó el contenido de ambos compartimentos, colocando en el donador 3mg de clotrimazol con 0.5ml del sistema solvente y en el receptor 1.8ml del mismo sistema.

Sé mantuvieron las celdas en el baño maría y se tomaron muestras a 1, 2, 4, 6, 8, 24, 26, 28, 30, 32 y 48 horas, reponiéndose en cada toma la misma cantidad de solvente. Se tomó su absorbancia a 216nm.

Después de las 48 horas el donador se enjuagó con 2ml de etanol agitando manualmente por 20 segundos y depositándose en un matraz de 100ml, éste último paso se repitió y finalmente se llevó al volumen con mezcla etanol-agua (30:70) y se tomó su absorbancia. Las membranas se depositaron en frascos viales con 2 ml de etanol dejándose en contacto por 24 horas. Inmediatamente después los 2ml se colocaron en un matraz de 25ml y se volvieron a agregar 2ml de etanol a las membranas dejándose reposar por una hora, nuevamente este

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

procedimiento se realizó y finalmente se llevó al volumen con mezcla etanol-agua y se tomó su absorbancia a 216nm. Este ensayo se realizó por sextuplicado.

3.3.0. PERMEACIÓN CON PROMOTOR

Sé cortó la membrana a la medida de la celda tratando de que el grosor fuera lo más delgado posible, se enjuagó con SSF. Luego se colocaron en las celdas y se añadió 1.5ml de mezcla etanol-agua (30:70) en el donador y 1.8ml en el receptor, se dejó reposar por 20 minutos en baño maría con agitación a 37°C, después se desecharon ambos compartimentos. Se depositaron 200µl del promotor en el donador y 1.8 ml de sistema solvente en el receptor, las celdas se colocaron en el baño maría por una hora, después de ése tiempo se desechan ambos compartimentos y el donador se limpió con un poco de algodón, se colocaron 3mg de clotrimazol y 0.5ml de mezcla etanol-agua en el donador y 1.8ml de mezcla etanol-agua en el receptor, dejándose las celdas en baño maría. Se tomó muestra a 1, 2, 4, 6, 8, 24, 26, 28, 30, 32 y 48 horas. Reponiéndose la misma cantidad de muestra en cada toma, se llevó a leer a 216nm.

Después de las 48 horas el donador se colocó en un matraz volumétrico de 100ml y se enjuagó con 2ml de etanol agitándose manualmente por 20 segundos, ésta operación se repitió nuevamente, se llevó al volumen con mezcla etanol-agua (30:70) y se tomó su absorbancia a 216nm. Las membranas se depositaron en frascos viales con 2ml de etanol dejándose reposar por 24 horas. Posteriormente se colocaron los 2ml en un matraz de 25 ml y se le adicionaron 2 ml de etanol más a las membranas dejándose reposar por una hora, este paso se repitió y finalmente se llevó al volumen con mezcla etanol-agua (30:70) y se tomó su absorbancia a 216nm. Sé realizó por sextuplicado.

3.3.1. FACTOR DE PROMOCIÓN

Este factor indica si los moduladores utilizados en el estudio promueven la permeación con respecto al control (FP>1), retardan la permeación (FP<1) o no tiene efecto (FP=1). Este se calcula como sigue:

$$FP = \frac{\text{Flujo fármaco con promotor}}{\text{Flujo fármaco sin promotor}} = \frac{\text{Coeficiente de permeabilidad con promotor}}{\text{Coeficiente de permeabilidad sin promotor.}}$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV RESULTADOS

4.1 DETERMINACIÓN DE LA λ DE MÁXIMA ABSORCIÓN

El siguiente gráfico muestra el espectro del Clotrimazol, con el cual se eligió la longitud de onda máxima, a la cual se realizaron todas las lecturas de absorbancia (216 nm). Este sistema fue el que mostró la mejor respuesta, de entre las diferentes mezclas etanol-agua.

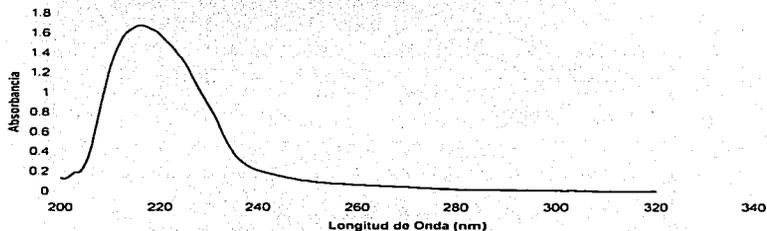


Figura 9. Espectro de absorción del Clotrimazol (10 μ g/ml) utilizando como solvente una mezcla etanol-agua (30:70).

4.2 CURVAS DE CALIBRACION PARA EL CLOTRIMAZOL

4.2.1 CURVA DE CALIBRACION EN MEZCLA ETANOL-AGUA (30:70)

En la figura 10 se muestra la curva de calibración para el Clotrimazol. El coeficiente de variación fue menor al 2%, el coeficiente de regresión es de 0.99 y el de determinación de 0.99. En cuanto al análisis estadístico demostró que la curva de calibración pasó la prueba de la regresión lineal y la prueba de la pendiente (Anexo 1).

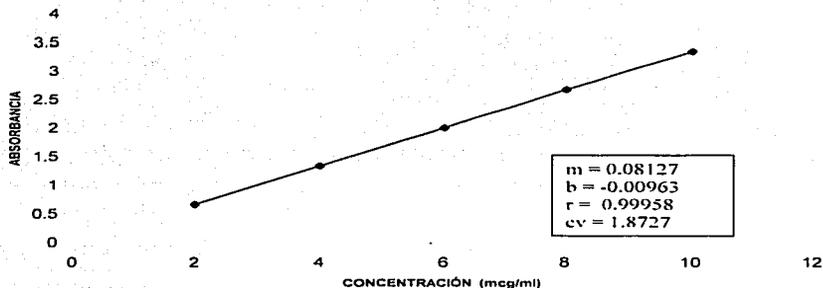


Figura 10. Curva de calibración del Clotrimazol utilizando como solvente etanol-agua (30:70).

4.2.2 CURVA DE CALIBRACIÓN EN SOLUCIÓN SATURADA

La figura 11 muestra la tendencia de la curva de calibración con solvente en contacto previo con mucosa. En este caso se obtuvo un coeficiente de variación de 3%, un coeficiente de correlación de 0.99 y el de determinación de 0.99. El análisis estadístico realizado para la curva nos indica que tanto la prueba de la regresión lineal como de la pendiente se aceptan (Anexo 2).

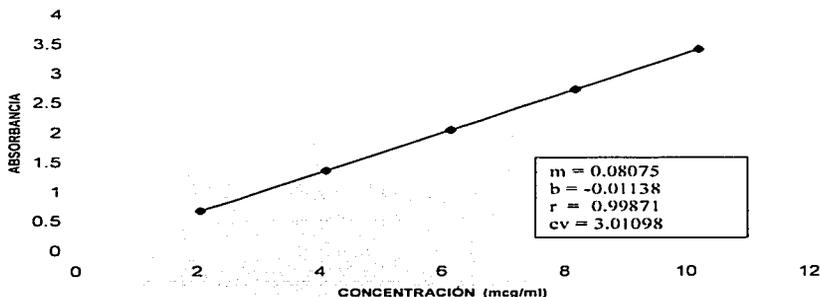


Figura 11. Curva de calibración del Clotrimazol utilizando como solvente una solución saturada con membrana.

Entre las dos curvas de calibración que se realizaron, se observa que el valor obtenido en ambas pendientes es muy parecido, pues al realizar la prueba de t, se encontró que no existe diferencia significativa entre ellas (Anexo3); así como también el de la ordenada al origen, sin embargo en el coeficiente de variación existe una pequeña diferencia entre ambas curvas, es decir, en la que se utilizó solo etanol-agua fue de 1.87 y en la de etanol-agua con solución saturada con membrana vaginal de cerdo fue de 3%, debido a que existen diversos componentes en la membrana que aumentan la dispersión de los datos. Sin embargo se utilizó esta última curva de calibración para calcular los datos de permeación, puesto que en el sistema el solvente estaba en contacto con la membrana.

4.3 SOLUBILIDAD DEL CLOTRIMAZOL

4.3.1 SOLUBILIDAD EN ETANOL-AGUA

El Clotrimazol resultó ser poco soluble en etanol-agua (tabla 3) y concuerda con la especificación de la Farmacopea con respecto a la solubilidad de este compuesto.

Tabla 3. Datos de solubilidad del Clotrimazol a 37°C en etanol-agua (30:70)

Sistema	Solubilidad mcg/ml
A	39.031669
B	33.348497
C	50.001116
Promedio	40.79376
S	8.4649926

4.3.2 SOLUBILIDAD CON SOLUCIÓN SATURADA

La tabla 4 nos muestra la solubilidad del Clotrimazol en la mezcla etanol-agua, pero en este caso el solvente se mantuvo en contacto por una hora con la mucosa. Como se puede observar el valor obtenido de solubilidad en este caso fue de 47.612 mcg/ml.

Tabla 4. Solubilidad del Clotrimazol a 37°C en etanol-agua pretratado con membrana vaginal.

Sistema	Solubilidad mcg/ml
A	45.316845
B	50.734685
C	46.784307
Promedio	47.611946
S	2.8021397

Al comparar ambos resultados de solubilidad del Clotrimazol en etanol-agua y con solución tratada con mucosa se observa un pequeño aumento en ésta última debido a que en la membrana existen diversos compuestos tales como proteínas y lípidos que permitieron un aumento ligero en la solubilidad.

4.4 ESTABILIDAD DEL CLOTRIMAZOL

La prueba de estabilidad se realizó con las siguientes condiciones: se utilizaron frascos viales de color transparente a temperatura ambiente y sin agitación.

Tabla 5. Datos de estabilidad del Clotrimazol en solución acuosa (25°C)

Día	concentración mcg/ml
1	6.0243
2	6.0243
3	6.023
4	6.023
5	6.023
Concentración real	6.0243
Promedio	6.02352
Desviación Estándar	7.1204E-04

Como se puede observar en la tabla 5 el Clotrimazol resultó ser muy estable por varios días, siendo la diferencia de 0.0013µg/ml del día 2 al día 3.

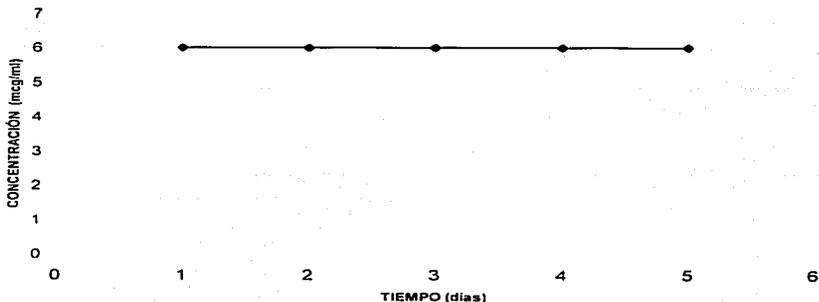


Figura 12. Estabilidad del Clotrimazol en solución acuosa (25°C).

4.5 PERMEACIONES

4.5.1 ETANOL-AGUA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la tabla 6 se muestran los resultados utilizados para obtener la constante de permeación y en la figura 13 se observa el comportamiento del Clotrimazol permeado en función del tiempo utilizando una mezcla etanol-agua como medio solvente.

Tabla 6. Datos de la cinética de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo utilizando como solvente una mezcla de etanol-agua.

Tiempo h	M/A*(mcg/cm ²)
8	28.8906
24	69.5304
26	74.7683
28	77.1604
30	83.6142

M/A* es el promedio de 6 determinaciones

M = Es la cantidad de Clotrimazol permeado

A = Es el área que ocupa la membrana en la celda.

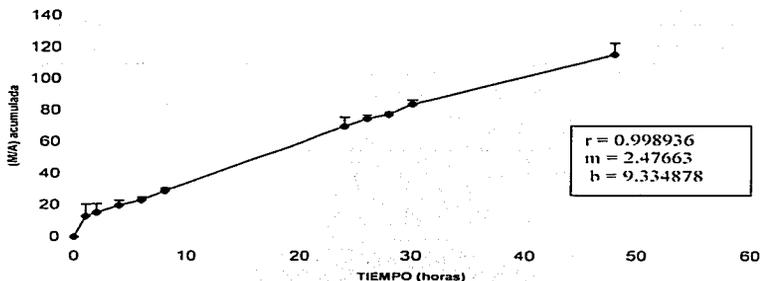


Figura 13. Cinética de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo utilizando una mezcla de etanol-agua (30:70)

La constante de permeación resultó ser de $1.44E-05$ (cm/seg) Para obtener esta constante sólo se tomaron en cuenta los tiempos observados en la tabla 6 debido a que la ecuación (9) está relacionada con un modelo lineal.

4.5.2 PROPILENGLICOL

La figura 14 muestra la cinética de permeación del Clotrimazol utilizando como agente promotor al Propilenglicol y en la tabla 7 se encuentran los datos tomados para obtener la constante de permeación que fue de $1.36E-05$ cm/seg., la cual generó un factor de promoción de 0.9422366 (utilizando como control la cinética con etanol-agua).

Tabla 7. Datos de la cinética de permeación del Clotrimazol utilizando como promotor al propilenglicol.

Tiempo h	M/Λ*(mcg/cm²)
8	25.5093
24	64.0806
26	69.2182
28	73.0269
30	77.6755
32	80.3308

M/Λ* es el promedio de 6 determinaciones
M = Es la cantidad de Clotrimazol permeado
Λ = Es el área que ocupa la membrana en la celda.

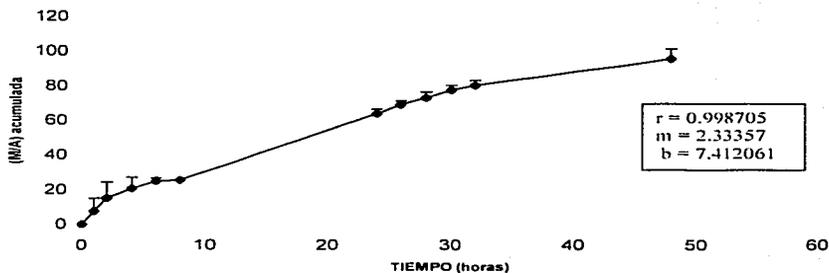


Figura 14. Cinética de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo y utilizando como agente promotor al propilenglicol y como medio solvente una mezcla de etanol-agua 30:70.

4.5.3 DERMAC-PROPILENGLICOL

La figura 15 muestra el comportamiento de la cinética de permeación del Clotrimazol utilizando como agente promotor una mezcla de propilenglicol-Dermac y en la tabla 8 se encuentran los datos que se utilizaron para obtener la constante de permeación siendo de $5.2E-06\text{cm/seg}$. El factor de promoción fue de 0.3616616.

Tabla 8. Datos de la cinética de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal utilizando como agente promotor una mezcla de propilenglicol-Dermac.

Tiempo h	M/A*(mcg/cm ²)
8	3.1921
24	15.0239
26	19.8104
28	21.7872
30	23.1479
32	23.8801

M/A* es el promedio de 6 determinaciones

M = Es la cantidad de Clotrimazol permeado

A = Es el área que ocupa la membrana en la celda.

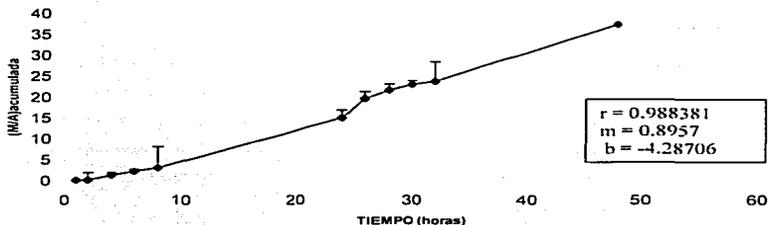


Figura 15. Cinética de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo, utilizando como agente promotor al Dermac y como medio solvente una mezcla de etanol-agua 30:70.

4.5.4 AZONA - PROPILENGLICOL

Con los datos de la tabla 9 se obtuvieron la constante de permeación y el factor de promoción siendo de $7.9E-06$ cm/seg y 0.51642 respectivamente y la figura 16 se muestra la tendencia de la cinética de permeación del Clotrimazol en membrana vaginal utilizando como promotor a la Azona.

Tabla 9. Datos de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo y utilizando como agente promotor una mezcla de propilenglicol-Azona.

Tiempo h	M/A*(meg/cm ²)
8	12.8159
24	33.9871
26	36.716
28	38.3041
30	40.5741

M/A* es el promedio de 6 determinaciones

M = Es la cantidad de Clotrimazol permeado

A = Es el área que ocupa la membrana en la celda.

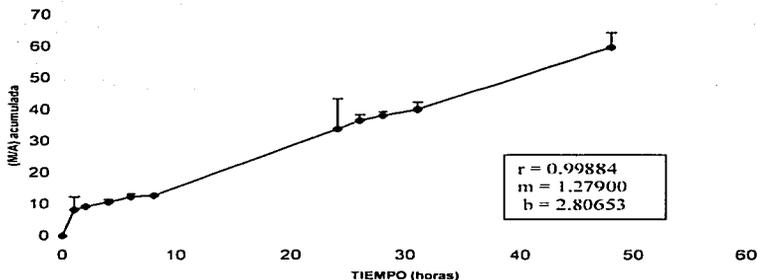


Figura 16. Cinética de permeación del Clotrimazol en membrana vaginal utilizando como agente promotor una mezcla de propilenglicol-Azona.

4.5.5 AGUA

A partir de los datos observados en la tabla 10 se obtuvo la constante de permeación que fue de $1.22E-05$ cm/seg. La figura 17 muestra la cinética de permeación del Clotrimazol en membrana vaginal de cerdo usando como solvente agua.

Tabla 10. Datos de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal usando como solvente agua sin ningún promotor.

Tiempo h	M/Λ*(mcg/cm²)
8	32.7519
24	58.5176
26	67.4613
28	72.2462
30	78.2151
32	84.5604

M/Λ* es el promedio de 6 determinaciones
M = Es la cantidad de Clotrimazol permeado
Λ = Es el área que ocupa la membrana en la celda.

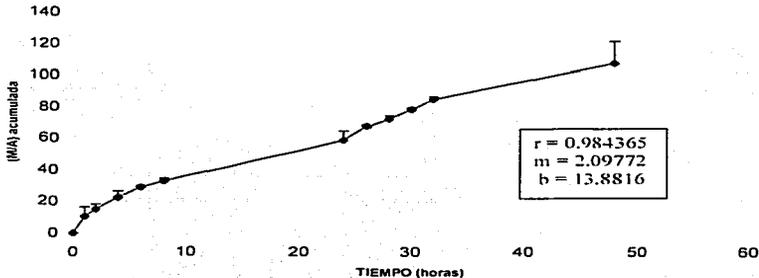


Figura 17. Cinética de permeación del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo utilizando como solvente agua

4.5.6 COMPARACIÓN DE LAS CINÉTICAS DE PERMEACIÓN DEL CLOTRIMAZOL UTILIZANDO DIFERENTES AGENTES PROMOTORES.

La figura 18 muestra las diferentes cinéticas de permeación que se realizaron para el Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo.

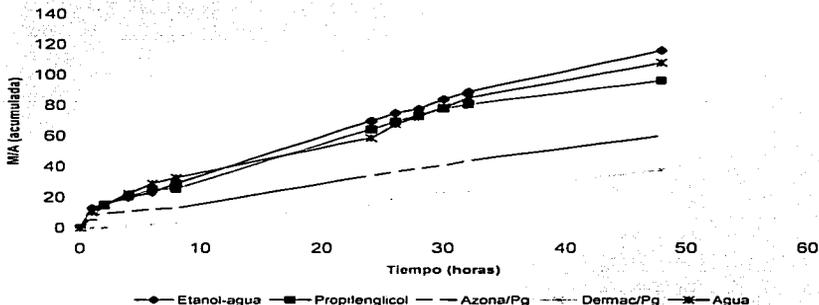


Figura 18. Cinéticas de permeación del clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo con diferentes agentes moduladores de permeación.

En la cinética en la cual se utilizó como solvente la mezcla etanol-agua 30:70 fue el sistema que permitió el paso de una mayor cantidad de principio activo a través de la membrana vaginal seguido de la del agua, propilenglicol, azona y por último dermac.

Tabla 11. Datos obtenidos de la permeación del Clotrimazol así como también los factores de permeación de los diferentes componentes utilizados.

Componente	P (cm /seg.)	J (mcg/cm ² h)	Factor de promoción
Agua	1.22E-05	2.0977	1.0
Etanol-Agua	1.44E-05	2.4766	1.1806
Propilenglicol	1.36E-05	2.3335	0.9422
Azona	7.90E-06	1.2790	0.5164
Dermac	5.20E-06	0.8957	0.3616

4.6 CANTIDAD RETENIDA DE CLOTRIMAZOL EN MEMBRANA VAGINAL

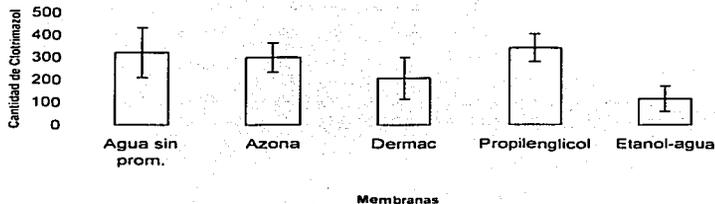


Figura 19. Cantidad de Clotrimazol que se retuvo en la membrana vaginal de cerdo de cada una de las cinéticas realizadas.

Como se observa en la figura 19 en la cinética de permeación en la que se utilizó como agente promotor al propilenglicol la membrana retuvo la mayor cantidad de Clotrimazol siendo de 341mcg, seguido de la cinética de agua sin promotor siendo de 322mcg, posteriormente la siguió la Azona con 299mcg, el Dermac con 208mcg y finalmente la mezcla etanol-agua (30:70) con 116mcg. En el anexo 5 se muestra la prueba de ANADEVVA y la prueba de Duncan donde se determinó entre cuales tratamientos existen diferencias.

V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Dada la alta lipofiliidad del Clotrimazol ($\log P = 4.91$) y la baja solubilidad en el medio solvente utilizado ($47.61 \mu\text{g/ml}$) favorecen que este fármaco se acumule en la membrana vaginal, generando a su vez valores bajos de permeación (ver tabla 11). Sin embargo estos valores de flujo encontrados para el Clotrimazol son mayores a los reportados al utilizar tejido queratinizado humano, $J = 0.02 \mu\text{g/cm}^2 \cdot \text{h}$, aplicado como una solución al 1% en propilenglicol (Schmook et al., 2001), lo cual si lo comparamos con el valor encontrado en este trabajo $J = 2.47 \mu\text{g/cm}^2 \cdot \text{h}$ representa un incremento de 149 veces. Este bajo flujo en piel se debe a la queratinización de este tejido.

En la figura 18 se observa la comparación de las cinéticas de permeación realizadas, en ella se ve que al inicio de la permeación existe un rápido transporte de fármaco a través de la membrana, éste fenómeno se observa para las cinéticas de etanol-agua, propilenglicol, agua sin promotor y azona lo cual puede ser debido al cambio tan drástico al cual fue sometida la membrana; es decir, al inicio los lípidos de la membrana se encuentran en una fase gel ó rígida y pasan a una fase líquido cristalina (Ganem et al, 1998), lo cual permitió que el paso del fármaco fuese rápido.

Por otra parte este comportamiento no se observa en la cinética de permeación en la que se utilizó como promotor al Dermac, en donde se obtuvo un t lag de 8 horas. En esta misma figura podemos observar que la cinética realizada con la mezcla etanol-agua 30:70 obtuvo el mayor flujo de Clotrimazol (tabla 11), seguida por la cinética de agua sin promotor, con propilenglicol, Azona y finalmente por el Dermac. Este comportamiento fue debido a las propiedades fisicoquímicas del Clotrimazol en especial a la solubilidad del mismo ($\text{agua} < 0.01 \text{ mg/ml}$) y por tanto al penetrar a través de la membrana vaginal lo hizo por vía intercelular específicamente a través de los lípidos de ésta. También se sabe que los fármacos liposolubles pasan fácilmente a través de ella, incluso cuando sus dimensiones no son suficientemente pequeñas como para permitir el pasaje a través de los poros. No obstante, sustancias muy lipofílicas tienden a retenerse de manera importante en la membrana y su partición en el medio receptor se dificulta. Esto se hace evidente en la figura 19, en donde se muestra que en prácticamente todos los sistemas la cantidad retenida en la mucosa fue mayor a la cantidad total permeada al receptor.

En la figura 13 se muestra la cinética de permeación del Clotrimazol realizada con etanol-agua (30:70), como se sabe la función del etanol como promotor se atañe al cambio de conformación de las proteínas o a la desnaturalización de las mismas y a la extracción de los lípidos, pues se ha demostrado que es capaz de incrementar la fluidez de los lípidos intercelulares (Ganem et al, 1997 y 1998) lo cual llevo a incrementar el flujo del fármaco a través de la membrana al arrastrarlo consigo después de extraer a los lípidos y por tanto esto ratifica que el etanol fungió como promotor en el estudio al observar la tabla 11 que muestra el factor de promoción (FP) siendo este de 1.18

En la figura 17 es mostrada la cinética de permeación del agua sin promotor. Como se comentó anteriormente fue la segunda que más permeó a través de la membrana; debido a que las moléculas del agua se asocian a los puentes de hidrógeno que se encuentran en las cabezas de los grupos polares de los lípidos formando una pequeña capa de hidratación; además el agua se une a las cadenas de las proteínas por puentes de hidrógeno. Por otra parte la hidratación ayuda a que el fármaco tenga una mayor movilidad entre las células, creándose características de mayor fluidez, lo cual permite que exista una competencia entre los puentes de hidrógeno (Barry, 1987).

En estudios realizados por Scheuplein y col. (1971) se encontró una permeabilidad similar para el agua, metanol y etanol a través del estrato corneo, la energía de activación para estos solutos es de $16.5 \pm 2 \text{ Kcal mol}^{-1}$ en contraste con la energía de activación para los alcoholes lipofílicos que decrece a $10 \pm 2 \text{ Kcal. mol}^{-1}$ y propone el camino de lípidos para la permeación. Así mismo Potts y Guy (1990) dicen que el coeficiente de permeabilidad para el agua, metanol y etanol es constante y concluyen que el mecanismo de transporte para solutos a través del estrato corneo y de otras membranas lipídicas es por el camino intercelular lipídico.

La figura 14 muestra la cinética de permeación en la cual se utilizó al propilenglicol como promotor, éste solvente es capaz de co-difundir favoreciendo de esta manera la solubilización de los penetrantes en la región lipídica; es decir, trabaja solvatando al tejido y formando uniones de hidrógeno con grupos polares (Ganem et al, 1998), en este caso aumentó la solubilidad del fármaco al penetrar a la membrana pudiendo arrastrar consigo al fármaco, el flujo obtenido fue de $2.70 \text{ mcg/cm}^2 \cdot \text{h}$ pero el FP indica que no actuó como tal dando un valor de 0.94. A su vez el propilenglicol actúa al disminuir la tensión interfacial entre el medio solvente y la membrana a permear, sin embargo en este experimento el sistema solvente utilizado (etanol-agua, 30:70) por sí mismo presenta un baja tensión superficial favoreciendo la interacción de este sistema con la membrana vaginal.

Siguiendo con las cinéticas de permeación en la figura 16 se muestra la realizada con la mezcla Azona-propilenglicol, en la cual se observa que la cantidad permeada de clotrimazol fue baja. Los efectos de la Azona en la penetración de varios fármacos fue estudiado en los 1980's. La Azona es un promotor efectivo para ambos tipos de fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos con una variedad de peso molecular, la Azona es usado en bajas concentraciones de 1-5% y su actividad se incrementa con el uso de cosolventes como el propilenglicol (Smit, E; Howord, 1995), ésta es la razón por la cual se utilizó una mezcla de ambos promotores tratando de que el flujo del Clotrimazol fuese mayor, pero como se observa tanto en la figura 15 como en la tabla 11, la cantidad permeada fue muy baja, pues se cree que al insertarse entre los lípidos de la membrana la Azona evitó que las cadenas se cristalizaran (Barry, 1987) pero también provocó que el fármaco no se insertara en los lípidos de la membrana formándose una especie de antagonismo.

La cinética de permeación realizada con Dermac-propilenglicol que se observa en la figura 15. El Dermac SR-38 es un uretano cíclico que tiene una cabeza polar, un

anillo oxazolidina y un tallo lipofílico, el mecanismo de acción de las oxazolidinas no ha sido muy investigado pero se cree que es similar a otros promotores como la Azona al tener características estructurales similares. Se sabe que los promotores con una cadena hidrocarbonada larga de 10 a 12 carbonos son promotores efectivos. Este promotor cuenta con una cadena de 10 carbonos, lo que hace suponer que es un buen promotor y al ser una molécula lipofílica (no polar), al igual que la Azona es posible que penetre a través de una vía lipídica intercelular. En este caso se observa que tanto el flujo (tabla 9) como la constante de permeación son las más bajas del estudio realizado lo cual parece indicar que actúa retardando la velocidad de permeación del clotrimazol, posiblemente la inserción del Dermac SR-38 afecta la partición del clotrimazol entre el vehículo y el tejido, dificultando su penetración en las regiones intercelulares cuyo carácter es fundamentalmente lipofílico. En estudios anteriores han reportado que el SR-38 actúa retardando la velocidad de permeación como lo fue en el caso del 5-fluoracilo utilizado a través de piel de cerdo (Acevedo, 1999); así como también disminuyó la velocidad de flujo con el ibuprofeno a través de mucosa oral (Rosendo, 1999).

Por otra parte la estructura molecular del Dermac SR-38 es muy parecida a la estructura molecular del N-0915 que es un análogo de la Azona y ha demostrado ser un retardador utilizando metronidazol en estrato corneo, es decir, que la actividad de los promotores puede ser expresada en función de su geometría molecular y el cambio en la distribución. El N-0915 condensó los lípidos de la piel provocando que la permeación fuese menor, así como también el incremento en la temperatura de transición de los liposomas hizo que disminuyera la permeabilidad del metronidazol en la piel, pues este compuesto compite por los enlaces H de los lípidos del SC (Hadgraft, 1996). Todos estos trabajos de investigación explican el porque el Dermac se comportó como un retardador en este estudio y no como un promotor del Clotrimazol.

Como se puede observar en la figura 19, el propilenglicol resultó ser el promotor que retuvo una mayor cantidad de Clotrimazol en la membrana, siendo de 341mcg/ml, así como también se puede observar que éste compuesto permitió que la cantidad permeada de Clotrimazol fuese considerable a través de la membrana, lo cual es bueno pues el mecanismo de acción del Clotrimazol es inhibir la síntesis de los esteroides necesario para la formación de la membrana celular en los microorganismos que están creciendo de forma activa en la membrana.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. CONCLUSIONES

Se determinó la permeabilidad del Clotrimazol a través de membrana vaginal de cerdo.

Se logró evaluar el efecto de diferentes moduladores de permeación al realizar la comparación sobre el flujo del clotrimazol a través de membrana vaginal, observando que la cantidad permeada de mayor a menor fue la siguiente: mezcla etanol-agua(30:70), propilenglicol, azona y dermac.

Se determinó que con la mezcla etanol-agua (30:70) el Clotrimazol logró atravesar la membrana en un mayor porcentaje, aunque en la membrana quedó una menor cantidad de principio activo, lo cual no es muy conveniente para aliviar las enfermedades vaginales, ya que es preferible mantenerlo en la membrana para así erradicar al hongo causante de la enfermedad.

Por otra parte el propilenglicol puede tener efecto sinérgico con el clotrimazol pues pasa una buena cantidad de Clotrimazol a través de la membrana y en ella queda retenida una mayor cantidad.

Se puede pensar que el propilenglicol es un buen vehículo a incluir en una forma farmacéutica para tratamiento de micosis vaginal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PERSPECTIVAS

Este trabajo puede ser un apoyo en investigaciones posteriores que se deseen realizar a nivel vaginal pues:

- ❖ Se pueden utilizar diferentes fármacos para comprobar el efecto de los promotores; es decir si pueden acelerar el proceso de permeación del fármaco o bien lo puede retardar en la membrana.
- ❖ Este mismo trabajo se puede realizar ahora utilizando otros equipos de medición como lo son el Infrarrojo, Calorimetría diferencial de barrido para determinar la cantidad de principio activo en la membrana.
- ❖ Puede dar la pauta para proponer una forma farmacéutica.
- ❖ También se puede pensar en evaluar anticonceptivos, utilizando los promotores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO. 1

CURVA DE CALIBRACIÓN DEL CLOTRIMAZOL EN ETANOL-AGUA (30:70)

Concentración mcg / ml	Absorbancia		
2.006	0.16170		
2.006	0.1592		
2.006	0.1563		
4.012	0.3139	r =	0.99958
4.012	0.3046	r ²	0.99
4.012	0.3139	m	0.08127
6.018	0.4708	b	-0.00963
6.018	0.4822	C.V.	1.8727
6.018	0.4720		
8.024	0.6484		
8.024	0.6361		
8.024	0.3524		
10.03	0.8099		
10.03	0.8112		
10.03	0.7993		

Tabla de ANADEVa para la regresión lineal simple

Fuente de variación	SC	gl	CM	RI ²
Regresión Lineal	0.7968	1	0.7968	15539.71
Residual	6.661E-04	13	5.1271E-05	
Total	0.7981	14		

Prueba de Hipótesis:

H0 : X y Y no están relacionadas linealmente

HA : X y Y están relacionadas linealmente

Se rechaza la hipótesis nula de no relación lineal entre X y Y y se concluye que las dos variables están relacionadas linealmente.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

PRUEBA PARA LA PENDIENTE:

$$H_0 : b = 0$$

$$H_A : b \neq 0$$

El valor obtenido de t de tablas es $\alpha 0.05$ y $n = 13$ es ± 2.160

Dado que la t calculada fue de $124.70 > 2.106$ se dice que es significativa y se rechaza H_0 , por tanto se concluye que la pendiente de regresión lineal no es cero.

PRUEBA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN:

$$H_0 : b_0 = 0$$

$$H_A : b_0 \neq 0$$

No se rechaza H_0 si t experimental $< t$ teórico.

t experimental es = -197.74

t teórico = 2.160

No se rechaza la hipótesis nula, y se considera que el intercepto no es diferentes de cero.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 2

CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL CLOTRIMAZOL CON MEMBRANA VAGINAL

Concentración mcg/ml	Absorbancia		
2.044	0.1608		
2.044	0.1516		
2.044	0.1536		
4.088	0.3234		
4.088	0.3075		
4.088	0.3282	r	0.998712
6.132	0.494	r ²	0.99
6.132	0.4715	m	0.08075
6.132	0.4959	b	-.001138
8.176	0.6406	C. V.	3.0109
8.176	0.622		
8.176	0.6352		
10.22	0.8288		
10.22	0.8286		
10.22	0.8151		

Tabla de ANADEVa para la regresión lineal simple

Fuente de variación	SC	gl	MC	RI ²
Regresión lineal	0.81887	1	0.81887	50.47.83
Residual	2.108E-03	13	1.622E-04	
Total	0.82098	14		

Prueba de Hipótesis:

H0: X y Y no están relacionadas linealmente

H1: X y Y están relacionadas linealmente

El valor de F de tablas es 4.67

Se rechaza la hipótesis nula de no relación entre X y Y

Se concluye que las dos variables están relacionadas linealmente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PRUEBA PAR A LA PENDIENTE:

$H_0 : B = 0$

$H_1 : B \neq 0$

El valor de t calculado fue 70.98

El valor de t de tablas para 13 gl y α 0.05 es ± 2.160

Dado que t calculada es $70.98 > 2.160$ se dice que es significativa, se rechaza H_0 y se concluye que la pendiente de regresión lineal no es cero.

PRUEBA PARA LA ORDENADA AL ORIGEN:

$H_0: B = 0$

$H_1: B \neq 0$

No se rechaza t experimental $< t$ tablas.

La t calculada es -62.58

La t tablas es 2.160

No se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el intercepto no es diferente de cero.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 3

COMPARACIÓN DE LAS PENDIENTES PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DEL CLOTRIMAZOL

Sin membrana

Con membrana

λ'	λ''	λ'	λ''
2.006	0.6686	2.028	0.174
4.012	1.3373	4.056	0.363
6.018	2.006	6.084	0.4703
8.024	2.6746	8.112	0.653
10.03	3.3433	10.14	0.774

1.- $H_0: r^2_1 = r^2_2$

2. - $H_1: r^2_1 \neq r^2_2$ (prueba de dos colas)

3. - Donde: r^2_1 es curvan de calibración sin membrana y r^2_2 es curva de calibración con membrana.

4. - El valor estadístico de la prueba de F es 1.0220

5. - El valor de F de tablas con α 0.05 y n (4,4) = 15.98

6. - La decisión es no rechazar H_0 porque F 1.022 < 15.98 por tanto no hay evidencia estadística para concluir que las varianzas son distintas.

Se realizó una prueba de t para varianzas iguales:

7. - $H_0: \mu_2 - \mu_1 = 0$

8. - $H_1: \mu_2 - \mu_1$ es \neq de cero (prueba de dos colas)

9. - El valor estadístico de t 0.03658

10. - El valor de t de tablas para α 0.05 y 8 gl es \pm 2.306

11. - Se acepta H_0 pues t experimental < t de tablas.

12.- Se concluye que no existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 4

PRUEBA DE ANADEVA PARA LA CANTIDAD PERMEADA (P)

1.- $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

2.- $H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5$

3.- La estadística a comprobar en la prueba de igualdad de medias es ANADEVA es la razón de F

<i>Fuente de variación</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrados de medias</i>	<i>Razón de F</i>
Entre grupos	3.52953e-10	2	8.8238e-11	1.5346e-12
Error	5289.7233	23	229.9879	
Total	5289.7233	25		

El valor de F de tablas con $\alpha 0.01$ $n=4$ y $N = 27 = 4.11$

Se acepta la hipótesis nula H_0 y se concluye que las medias de los tratamientos que se realizaron son iguales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 5

PRUEBA DE ANADEVA PARA LA CANTIDAD RETENIDA EN MEMBRANA

- 1.- $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$
 2.- $H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5$

3.- La estadística a comprobar en la prueba de igualdad de medias es ANADEVA es la razón de F

<i>Fuente de variación</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrados de medias</i>	<i>Razón de F</i>
Entre grupos	134470.8	4	33617.7	5.19916
Error	161649.559	25	6465.9823	
Total	140936.782	29		

El valor de F de tablas con $\alpha = 0.01$ $n = 4$ y $N = 29 = 4.04$

Se concluye que la hipótesis nula de rechaza por que F de tablas es menor al F calculado, las medias no son iguales.

PRUEBA DE DUNCAN

Fuente	Etanol-agua	Dermac	Azona	Agua	Propilenglicol
Media	116	208	299	322	341
Valor de tablas		3.15	3.3	3.37	3.43
intervalo menor significante		66.4498	69.6141	71.0908	72.3565

Pg-Azona

Pg-Agua

Agua-Azona

Entre estas medias hay diferencias significativas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 6 Datos de Permeación

PERMEACION ETANOL-AGUA

Tiempo	Celda 1 mcc	Celda 2 mcc	Celda 3 mcc	Celda 4 mcc	Celda 5 mcc	Celda 6 mcc	Promedio	Des. Est	(m/a) acumulada
1	0	21 2119	0	0	0	31 4094	8 8635	7 6067	12 8905
2	0	1 0414	0	0	0	8 7476	1 615	5 4490	15 2633
4	0	5 1790	1 5586	0	0	3 0068	9 0579	3 1337	19 8207
6	0	6 1790	0 3208	1 0734	2 7482	1 6791	2 1332	1 7975	21 2140
8	3 1619	6 3160	3 6274	3 0068	5 4375	1 8689	1 9012	1 6581	28 8906
24	30 2110	30 4896	16 8675	26 2803	33 3658	30 4696	29 0439	5 8779	69 5304
26	3 9894	7 0408	1 6103	4 3549	1 0931	3 4265	3 6015	2 1436	74 7683
28	1 6103	3 4205	0 9380	1 1439	2 9550	0	1 6448	3 3414	77 1603
30	6 5066	6 0065	1 1517	1 6791	8 3855	2 6964	4 1376	2 4971	83 6132
48	30 4178	23 8495	11 7990	21 5739	27 1593	16 5054	21 8842	6 8594	115 3411
Total	73 8971	109 7148	38 1733	62 1122	84 1515	108 2150			

PERMEACIÓN SIN PROMOTOR

Tiempo	Celda 1 mcc	Celda 2 mcc	Celda 3 mcc	Celda 4 mcc	Celda 5 mcc	Celda 6 mcc	Promedio	Des. Esta	(m/a) acumulada
1	1 8203	2 8791	17 0790	3 0485	7 3990	8 0273	7 2924	5 8261	10 6055
2	0 5357	0 8608	8 0131	0 8274	2 3379	5 4579	3 0609	3 0640	14 9787
4	7 8055	1 7780	11 8577	1 3262	3 2509	4 4048	5 0854	4 0660	22 3735
5	5 0955	5 5802	5 2038	3 6791	3 5144	4 1120	4 5309	0 8726	28 9639
8	4 3897	3 7873	4 0097	1 2697	0 5357	1 5756	2 6046	1 6645	32 7515
24	30 7235	24 3187	13 7071	12 1589	11 6554	2 7351	17 7165	5 8746	58 5176
26	7 15667	6 2861	8 9202	6 7708	5 4438	6 2202	6 1397	0 7997	67 4613
28	5 0720	0 5357	2 4086	5 8155	3 9050	2 0039	3 2901	1 9975	72 2462
30	5 1049	4 5120	2 7803	5 2085	3 3409	3 6885	4 1042	0 9910	78 2151
32	5 5191	2 9497	1 3926	6 9402	3 2048	4 1732	4 3630	1 5683	84 5604
48	42 4783	17 7588	4 6485	12 5213	7 5708	8 9261	15 6506	13 9861	107 3216
Total	105 7913	71 2556	79 0813	61 5664	52 7477	72 3238			

PERMEACIÓN CON PROPILENGICOL

Tiempo	Celda 1 mcc	Celda 2 mcc	Celda 3 mcc	Celda 4 mcc	Celda 5 mcc	Celda 6 mcc	Promedio	Des. Est	(m/a) acumulada
1	1 6103	0 6268	0	1 3000	0 3174	17 6950	5 0916	7 4523	7 4049
2	0	8 3855	0	0 2656	2 0758	21 3670	5 1433	0 2507	14 8849
4	0 8863	14 0746	0	0	3 7825	7 4029	4 0141	6 2496	20 7258
6	3 0067	5 0258	1 3000	5 3858	2 7998	2 9194	1 6920	24 9685	24 9685
8	0	0	0	0	2 2309	0 3718	0	0	25 4093
24	27 4181	24 0564	24 1598	24 7804	29 4869	26 2283	26 5217	2 5133	64 0806
26	3 5157	0 2828	4 1963	1 5583	6 2133	1 5009	1 5326	2 0252	69 2181
28	2 7481	0 3174	0 3174	2 8516	9 3165	0 1622	2 6189	3 5088	73 0269
30	2 4378	1 1966	2 1896	4 4549	7 9718	0 6276	3 1964	2 6855	77 6755
32	1 6620	0	1 4551	0 9380	7 2477	0 2139	1 8258	2 7802	80 3308
48	4 5066	19 8623	7 1959	5 8513	13 0295	11 8507	10 5319	5 8258	95 6477
Total	46 9796	82 7692	39 8142	44 2385	87 9482	92 8544			

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

PERMEACIÓN CON AZONA

Tiempo	Celda 1 mcg	Celda 2 mcg	Celda 3 mcg	Celda 4 mcg	Celda 5 mcg	Celda 6 mcg	Promedio	Des Est	(m/a) acumulada
1	0	7 6097	3 2205	13 2998	6 8340	3 0585	5 7036	4 1322	8 2949
2	1 6621	1 3060	0	1 5586	0	0	0 7534	0 1865	9 3907
4	1 7655	2 4378	0	0 8345	0	0 8242	0 9270	0 8750	10 7389
6	2 4378	0 7311	0	2 4896	0	0 9380	1 0994	0 9446	12 3378
8	1 9223	0	0	0	0	0	0 5267	0	12 8159
24	27 7801	19 1430	0 1622	17 8501	13 8678	8 5406	14 5573	9 1932	33 9871
26	5 1789	1 1966	0	3 0584	1 2483	0 5760	1 8764	1 8807	36 7160
28	2 9550	1 9723	0	0 5242	0 9897	0 1105	1 0920	1 1515	48 3044
31	4 8169	0 6070	0	2 4378	0 5242	0	1 2977	2 1866	40 1913
48	19 9189	17 6950	0	19 7617	14 1781	9 0579	13 4366	4 5780	59 7312
Total	68 4872	52 0928	3 5827	61 8160	37 6420	22 8052			

PERMEACIÓN CON DERMAC

Tiempo	Celda 1 mcg	Celda 2 mcg	Celda 3 mcg	Celda 4 mcg	Celda 5 mcg	Celda 6 mcg	Promedio	Des Est	(m/a) acumulada
1	1 1966	0	0	0	0	0	0 1944	0	0 2989
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0 2989
4	1 1449	0 2139	0	0	4 0411	0 6276	1 0046	1 7518	1 4610
6	0 3174	0	0 2656	0 7311	1 8172	0 6794	0 6351	0 6256	2 3847
8	1 0931	0	0	0	1 5586	0 6794	0 5552	0 4398	3 1921
24	13 1954	8 9027	1 3653	2 8316	14 6435	5 9574	8 1356	4 9988	15 0239
26	1 2483	3 3171	1 5586	3 7308	6 5236	3 3687	3 2912	1 8881	19 8104
28	0 7828	1 2483	0	0 1622	4 4549	1 5669	1 3502	1 6593	21 7871
30	1 0414	0 0588	0	0	3 5239	0 9897	0 9356	1 3840	23 1479
32	0	0	0	0 3691	1 9724	0 6793	0 5034	0 8504	23 8804
48	7 8166	11 2818	6 7822	5 7479	17 9835	6 2650	9 4078	4 6729	37 4168
Total	27 8365	25 0226	11 8718	13 6927	56 4889	20 7510			

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS

Acevedo Peña Juana. Estudio del efecto promotor azona y 4 deciloxazolidin-2-ona sobre la absorción percutánea de tres fármacos con diferentes características de lipofiliidad. Tesis. UNAM FES-CUAUTITLAN (1999), pp 113.

Alvarado G. A.; Gaviño A. S. "Itraconazol+ secnidazol cápsulas vs. óvulos vaginales Acetónido de Fluocinolona 0.50mg, Nistatina 100,000U y metronidazol 500mg en el tratamiento sintomático de la vaginitis ". *Ginecología y Obstetricia de México*. 66 (1998) 173 – 178.

Amyr P. Sayani, In K. Chun, Yie W. Chien. "Transmucosal delivery of Leucine Enkephalin: Stabilization in Rabbit Enzyme Extracts and Enhancement of Permeation". *Journal Pharmaceutical Sciences*, Vol. 82, No. 11, Noviembre (1993), 1179-1185.

Barry B.W. "Mode of action of penetration enhancer in human skin". *Journal of Controlled Release* Vol. 6 , (1987) 85-97.

Bernard D. Davis. Tratado de Microbiología . 2ed. Salvat Editores, Barcelona (1983) págs.988-1018.

Bonifaz A. Micología Médica Básica, Mendez Editores, México (1998) págs.3-51

Carmona Leon Macaria . Protocolo de selección de medicamentos antimicóticos (ácido undecilénico y ketoconazol) dentro de la farmacia hospitalaria y comunitaria. Tesis . UNAM FES-Cuautitlan , (1998). págs 10-16.

Casanova R. y cols. "Utilidad del examen en fresco para el diagnóstico de candidiasis vaginal". *Ginecología y Obstetricia de México*. 65 (1997) 87 – 91.

Castro Rios Rocio. Diseño y evaluación de un ungüento antimicótico de liberación prolongada por una nueva técnica de adsorción-dispersión. Tesis UNAM FES-Cuautitlan , México (1993), págs 3-5.

Corbo C. Diane, Liu Jue-Chen, Yie W. Chien."Mucosal delivery of progestational steroids from a controlled release device: In-vitro/In vivo relationships".*Drug Development and Industrial Pharmacy*. Vol 17, No. 17, (1991), 2269-2290.

Cortés D. A. Aislamiento de Mobiluncus apartir de exudados vaginales de mujeres con un diagnóstico positivo de vaginosis bacteriana en la clínica de medicina familiar # 52 del Instituto Mexicano del Seguro Social. Tesis . UNAM FES-Cuautitlan (1996). pp72.

Eliséiev, V. G. Histología, Editorial Mir. URSS (1985), págs 573-581.

Flores R. y cols. "Vaginosis bacteriana. Relación de la flora con las células epiteliales de vagina , con diferentes tratamiento. Estudio ultraestructural". *Ginecología y Obstetricia de México*. 65 (1997) 182 – 190.

Ganem R., Quintanar G. et al., "Mechanisms of oral permeation enhancement", *International journal of pharmaceutics*. April (1997), pp. 127-142.

Ganem R. A.; Piñón S. E.; Quintanar. G. D. "Uso de los promotores de Absorción cutánea". *Ciencia Cosmética*. Vol.4 No. 2 Abril-Junio (1998), pp. 19-25.

Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. Panamericana, 7 ed. Buenos Aires (1986), págs. 928, 929 y 1166.

Hadgraft J., Peck J., Williams D., Pugh W., Allan G. " Mechanisms of action of skin penetration enhancers/retarders: Azone and analogue". *International Journal of Pharmaceutics*. vol. 141, (1996), 17-25.

Iris- de la Cruz S. "Nuevos enfoques en el tratamiento de infección de vías urinarias". *Ginecología y obstetricia de México*. 64 (1996) 319 – 324.

Jawetz E. Microbiología Médica. 11ed. El Manual Moderno, México (1985), págs.287-305.

Junqueira L. C., Carneiro J. Histología Básica. Salvat Editores, Barcelona (1977) , págs.400- 4002.

Karen Yu., Yie W. Chien. " Spermicidal activity-structure relationship of nonoxynol oligomer: physicochemical basis" *International journal of pharmaceutics*. March (1995), vol. 125, USA , 81-90.

Katzung. Farmacología Básica y Clínica . 2ed. El Manual Moderno. México (1986) págs 532-533.

Kenneth A. Walters, Jonathan Hadgraft. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. Marcel Dekker, Inc. Vol. 59, New York (1993), pp 440.

Klaus Florey. Analytical Profiles of Drug Substance. Academic Press, Inc. Vol. 11, California (1982), págs. 225-245.

Leeson Thomas; Leeson Roland. Histología, 4ed. Interamericana, México (1984), págs. 509-511.

Leshner J.; Levine N.; Treadwell P. "Prescripción de antimicóticos". *Atención médica.La revista del Médico General y del Internista*. Julio (1994) No. 7, págs. 38-45.

Litter Manuel. Compendio de Farmacología . 4ed. EL Ateneo, Buenos Aires (1988), pp. 932

Llaca R. V.; Carrion T. H.; Arguelles D. P. "Terconazol en candidiasis vaginal. Estudio comparativo". *Ginecología y obstetricia de México*. 58 (1990) págs. 328-331.

Pineda R. B. Síntesis bibliográfica de Gardnerella vaginalis 1983 –1994. Tesis . UNAM FES-Cuautitlan, (1996) . pp 63.

Potts, R. O. and Guy R. H. A: "Pore pathway not necessary to explain skin permeability" Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater. 18,(1991), pp. 175-176

Remigton, Farmacía. 19ed. Panamericana . Tomo 2. Buenos Aire (1998) págs 2026-2032.

Rivera Ramírez Rita. Incidencia de algunos agentes etiológicos de vaginitis inespecífica. Tesis. UNAM FES-Cuautitlan, (1986). pp. 84.

Rodríguez C. Rodolfo. Vademecum Académico de Medicamentos . 3ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México (1998), págs 229-230.

Rosendo Valdez Itzia. Estudio del efecto de dos promotores de absorción (azona y 4-dodecilaxazolidin-2-ona) sobre la penetración de fármacos a través de la mucosa oral no queratinizada. Tesis. UNAM FES-Cuautitlan (1999) pp.70

Scheuplein , R: J: and Blank, I. H. "permeability of the skin" Physiol. Rev. 51, (1971), pp. 702-747

Schmook P: F., Meingassner G. J., Billich A. " Comparison of human skin or epidermis models wiht human and animal skin in vitro percutaneous absorption". *International Journal of Pharmaceutics*. 215 (2001) 51 – 56.

Serono C. J. A.; Ricalde B. C.; De la Cabada J.; Vázquez A. "Frecuencia de diferentes patógenos como causa de vaginitis en México". *Ginecología y Obstetricia de México*. 58 (1990) 128-132.

Smith, Reynord. Farmacología . Panamericana México (1997), págs 839-849.

Stanley W. Jacob. Anatomía y Fisiología Humana. Interamericana, 4ed. México (1982) . págs.603 – 609.

Stannier. Microbiología, 4ed. Repla , México (1986) pág. 786-787.

Tapia Olguin Patricia. Estudios de la permeabilidad de la uña humana a antimicóticos tipo imidazol en presencia de sustancias queratolíticas. Tesis . UNAM FES-Cuautitlan. (1994). págs. 53-62.

Testut L.; Laterjet A. Compendio de Anatomía descriptiva. Salvat editores. 22 ed. Barcelona (1979) págs 735- 743.

Thorpe William Vale. Bioquímica. Continental, México (1984), pp. 553

Vithal J.; William R.; Pfister. "Oxazolidinones". *Drug and Cosmetic Industry*, March (1996) .

Voigt R. H.; Bornschein M. Tratado de tecnología Farmacéutica. Acribia , Zaragoza (1982) , págs. 667-685, 716-717.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA DISCRETION