

163

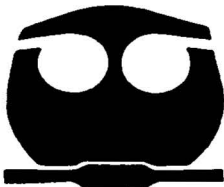


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**DESARROLLO DE UN GEL
ANTICONCEPTIVO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
FERMIN ALEJANDRO TENORIO LOPEZ



MEXICO, D. F.

**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

| | |
|----------------------|---|
| Presidente | Prof. José Benjamín Robles García. |
| Vocal | Prof. José Manuel Morales Hernández. |
| Secretario | Prof. Ernestina Hernández García. |
| 1er. Suplente | Prof. Yolanda Krich Flores. |
| 2º Suplente | Prof. Eduardo Jiménez Leyva. |

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Tecnología Farmacéutica. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

Departamento de Farmacología. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

Asesor del Tema


Q.F.B. Ernestina Hernández García

Supervisor Técnico


Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón

Sustentante


Fermín Alejandro Tenorio López

Í N D I C E

| | PÁGINA |
|---|--------|
| RESUMEN | 6 |
| ANTECEDENTES | 8 |
| 1. SITUACIÓN SOCIODEMOGRÁFICA DE LA SALUD REPRODUCTIVA | |
| EN MÉXICO | 9 |
| 1.1 Introducción | 9 |
| 1.2 Fecundidad | 11 |
| 1.2.1 El cambio en el nivel y la estructura por edad de la fecundidad | 12 |
| 1.3 Inicio de la vida reproductiva | 13 |
| 1.3.1 Edad a la primera unión | 13 |
| 1.3.2 Intervalo protogenésico | 16 |
| 1.3.2.1 Embarazo premarital | 17 |
| 2. PRÁCTICA ANTICONCEPTIVA | 18 |
| 2.1 Panorámica general de la práctica anticonceptiva en México | 18 |
| 2.2 Conocimiento de métodos anticonceptivos | 18 |
| 2.2.1 Distribución del uso de los diferentes métodos anticonceptivos | 20 |
| 2.2.1.1 Prevalencia de uso de métodos anticonceptivos | 22 |
| 2.2.1.2 Uso por los adolescentes de los métodos anticonceptivos | 24 |
| 2.3 Demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos | 26 |
| 3. DISEÑO DE EXPERIMENTOS TIPO FACTORIAL 2^k | 29 |
| 3.1 Definición de experimento diseñado | 29 |
| 3.1.1 Objetivos del experimento | 30 |
| 3.1.2 Ventajas de aplicar el diseño experimental en el desarrollo de un proceso | 30 |
| 3.1.3 Directrices para la optimización sistemática de procesos mediante el uso del diseño experimental | 31 |
| 3.2 Experimentos factoriales | 32 |
| 3.2.1 Algoritmo de Yates para el diseño factorial 2^k | 32 |
| 3.2.2 Análisis de los datos mediante el algoritmo de Yates | 34 |
| 3.2.2.1 Ecuaciones matemáticas que se utilizan en el algoritmo de Yates para obtener un modelo matemático | 34 |

| | |
|---|-----------|
| 4. GELES COMO FORMAS FARMACÉUTICAS | 36 |
| 4.1 Definición de gel | 36 |
| 4.1.1 Usos en formas farmacéuticas y cosméticas | 36 |
| 4.1.2 Clasificación | 36 |
| 4.1.3 Características de los geles | 38 |
| 4.1.3.1 Efectos reológicos de geles anticonceptivos en el sitio de aplicación | 38 |
| 4.2 Geles como alternativas anticonceptivas | 39 |
| 4.2.1 Agentes espermicidas empleados en la elaboración de geles | 39 |
| 4.2.1.1 Características de los agentes espermicidas | 40 |
| 4.2.1.2 Nonoxynol-9 | 40 |
| 4.2.1.2.1 Mecanismo de acción | 41 |
| 4.2.1.2.2 Metabolismo y efectos adversos | 43 |
| 4.2.1.2.3 Otros factores que favorecen la acción de Igepal CO-630 como espermicida | 44 |
| 4.3 Polímeros empleados en la elaboración de geles | 45 |
| 4.3.1 Derivados de la celulosa | 45 |
| 4.3.1.1 Hidroxipropilmetilcelulosa | 45 |
| 4.3.2 Carbómeros | 47 |
| 4.4 Conservadores | 48 |
| 4.4.1 Butilparabeno | 48 |
| 5. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ULTRAVIOLETA | 50 |
| 5.1 Generalidades sobre la espectrofotometría | 50 |
| 5.2 Aspectos moleculares de la absorción de la radiación: espectros electrónicos .. | 50 |
| 5.3 Nomenclatura | 51 |
| 5.4 Efecto de la estructura en la absorción: transiciones electrónicas | 52 |
| 5.5 Aspectos cuantitativos de la espectrofotometría de ultravioleta: | |
| Ley de Lambert-Beer | 52 |
| 5.5.1 Deducción de la expresión matemática de la Ley de Lambert-Beer | 53 |
| 5.5.2 Desviaciones de la Ley de Lambert-Beer | 54 |
| 5.5.2.1 Factores instrumentales responsables de desviaciones de la Ley de Lambert-Beer | 54 |

| | |
|--|-----|
| 5.5.2.2 Factores químicos responsables de desviaciones de la Ley de Lambert-Beer | 54 |
| 5.5.2.2.1 Factores involucrados en la formación de compuestos absorbentes | 54 |
| 5.5.3 Aplicaciones de la Ley de Lambert-Beer | 55 |
| 5.6 Aspectos instrumentales de la espectrofotometría de ultravioleta | 55 |
| 5.6.1 Espectrofotómetros de doble haz | 55 |
| 5.7 Métodos analíticos para la cuantificación de surfactantes no iónicos | 57 |
| 5.7.1 Cuantificación del Nonoxynol-9 mediante espectrofotometría de ultravioleta | 57 |
| 5.7.1.1 Fundamentos del método espectrofotométrico de Kho y Stolten .. | 58 |
| 6. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS | 59 |
| 6.1 Panorámica general de la validación de métodos analíticos | 59 |
| 6.1.1 Procedimientos analíticos que deben ser validados | 59 |
| 6.1.2 Casos en los que debe revalidarse un método analítico | 60 |
| 6.2 Parámetros que debe cumplir un procedimiento analítico de tipo espectrofotométrico | 60 |
| 6.3 Definiciones | 61 |
| FUNDAMENTACIÓN | 63 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 64 |
| OBJETIVOS | 65 |
| HIPÓTESIS | 66 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 67 |
| RESULTADOS | 81 |
| ANÁLISIS DE RESULTADOS | 101 |
| CONCLUSIONES | 106 |
| BIBLIOGRAFIA | 107 |

RESUMEN

Encuestas realizadas por el Consejo Nacional de Población (CONAPO) muestran una clara tendencia en lo que respecta a una disminución en la fecundidad (en 1974, la tasa global de fecundidad se estimaba en 6 hijos por mujer y actualmente se sitúa en 2.4 hijos por mujer). Paralelamente, en los últimos años ha aumentando el conocimiento respecto a los métodos anticonceptivos, así como también ha mostrado esta tendencia la demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos (calculada para 1997 en un 12.1 %) que sean eficaces, baratos, fáciles de emplear y que no causen efectos adversos. Considerando la información anterior, en esta tesis se propone el desarrollo de una formulación anticonceptiva y lubricante en gel, teniendo como principio activo al Nonoxynol-9[®] (Igepal CO-630[®], Tergitol TP-9[®], entre otros nombres comerciales), un espermicida aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en 1980. A pesar de que varias investigaciones han reportado varios efectos adversos (hemólisis de eritrocitos, irritación vaginal, efectos tóxicos en las membranas cervicales y vaginales, riesgo incrementado de desarrollar infecciones en el tracto urinario y exfoliación del epitelio rectal), tanto la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, así como el Centro de Control de Enfermedades Infecciosas de Atlanta, siguen considerando al Tergitol TP-9[®] como un espermicida seguro y eficaz. Adicionalmente, se sabe que el proceso de fertilización óvulo-espermatozoide es un proceso dependiente de calcio. Por ello, en la formulación se incorpora un agente quelante, como el EDTA, para formar un complejo de calcio-EDTA y así disminuir la movilidad de los espermatozoides, que combinado con un pH ligeramente ácido, incrementa de modo total la actividad espermicida del Igepal CO-630[®] sin tener que formular un producto con altas concentraciones de éste, lo que disminuye considerablemente el riesgo de que se observen efectos adversos.

Una vez obtenida la formulación anticonceptiva y lubricante en gel, se procedió a desarrollar un método analítico de tipo espectrofotométrico para cuantificar el surfactante no iónico presente en la formulación desarrollada, debido a que varias publicaciones recientes, sólo proponen metodologías de análisis para materia prima únicamente, por lo que resultan inadecuados para analizar a una matriz tan compleja como lo es un gel. Es por ello que se desarrolló un método espectrofotométrico en el que se ha complejado selectivamente al Nonoxynol-9 mediante su reacción con yoduro de potasio y mercurio (Reactivo de Mayer o

Reactivo no iónico), que ha mostrado ser selectivo, lineal (con un coeficiente de variación del 0.0352 %), exacto (con un porcentaje de recobro promedio del 99.9266 % y un coeficiente de variación del 0.0410 %) y preciso (con un porcentaje de recobro promedio del 99.9883 % y un coeficiente de variación del 0.1151 %), parámetros que cumplen lo indicado en los criterios de aceptación plasmados en protocolos de validación de métodos analíticos internacionales como las guías de Validación de Métodos Analíticos sugeridas por la Comisión Internacional de Armonización (ICH, por sus siglas en inglés).

En lo que respecta a la estabilidad de la formulación desarrollada, se hizo uso de las pruebas de ciclado por temperatura, como indicadoras de estabilidad, para observar si bajo cambios bruscos de temperatura durante un periodo de 7 días, se observaban cambios en las propiedades organolépticas del gel. Los resultados observados demuestran que el gel es estable aún bajo cambios bruscos de temperatura, pues no se observó cambio alguno en su apariencia, viscosidad, tensoactividad indirecta y concentración del principio activo.

Debido a lo anterior, puede considerarse que la formulación desarrollada es una alternativa viable como formulación anticonceptiva y lubricante no disponible en nuestro país que cumple, además, con las características de desempeño (como son la viscosidad, la tensoactividad indirecta, pH y cantidad de principio activo) adecuadas para su uso.

ANTECEDENTES

1. SITUACIÓN SOCIODEMOGRÁFICA DE LA SALUD REPRODUCTIVA EN MÉXICO.

1.1 Introducción.

En concordancia con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el gobierno mexicano define la salud reproductiva como el estado general de bienestar físico, mental y social, en todos los aspectos relacionados con el sistema reproductor, sus funciones y procesos. El enfoque en las políticas sobre salud reproductiva denota un excelso valor al derecho de toda persona a regular su fecundidad en forma segura y efectiva, a cursar un embarazo y parto sin riesgos, a tener y criar hijos saludables; a comprender y disfrutar su propia sexualidad; y a permanecer libre de enfermedad, incapacidad o muerte asociadas con el ejercicio de la sexualidad y reproducción.^{56,57}

Los cambios sociodemográficos experimentados durante los últimos años han hecho evidente la existencia de complejos vínculos entre la reproducción, la salud y la sexualidad de los individuos, e integra aspectos previamente abordados de manera independiente, como son la planificación familiar y la salud materno-infantil, la atención de patologías como el cáncer de mama y cérvico uterino, la infertilidad y las enfermedades de transmisión sexual. Por tanto, la salud reproductiva está estrechamente relacionada con la capacidad de la persona para ejercer sus derechos reproductivos, lo que conlleva a considerar los factores del contexto económico, político, cultural e institucional que inciden en el ejercicio de los mismos.

En el ámbito de la sexualidad y la reproducción, las desigualdades sociales y de género determinan en buena medida las condiciones, el poder y los recursos de que dispone la población de ejercer su libertad sexual; utilizar los medios que les permitan prevenir embarazos no deseados o enfermedades de transmisión sexual; tener acceso y demandar servicios de salud de calidad con oportunidad; y disponer, comprender y utilizar la información relativa al cuidado de la salud.⁵⁶

Las comunidades rurales, que corresponden a aquéllas con menos de 2500 habitantes, presentan baja integración a los mercados de trabajo y de bienes y, en ellas, prevalecen de manera más acentuada relaciones de género desigual. En estos ámbitos, la población tiene menor acceso a los bienes y servicios, incluidos los de la salud, que son necesarios para garantizar la reproducción cotidiana e intergeneracional de las familias. Los múltiples determinantes

económicos, culturales e institucionales que inciden en los ideales, percepciones, creencias y preferencias reproductivas, así como las dificultades de acceso físico, económico o social asociados a la utilización de servicios de salud explican en buena medida la dinámica diferenciada de la salud reproductiva entre localidades rurales y urbanas.

Cabe destacar que México ha experimentado un acelerado proceso de urbanización a lo largo del presente siglo. En 1995, casi el 74% de la población residía en localidades de más de 2500 habitantes; sin embargo, de las 201138 localidades censadas en el país, el 91.8% contaba con menos de 500 habitantes y en ellas residía el 11.6% de la población. La gran cantidad de localidades pequeñas y de difícil acceso representa un reto para las acciones orientadas a satisfacer las demandas de salud y de otros servicios públicos.^{57,58}

Como ha sido señalado en múltiples investigaciones realizadas por el Consejo Nacional de Población, la escolaridad es un factor clave del desarrollo de las personas y guarda estrecha relación con el cuidado de la salud y con la adopción de la práctica anticonceptiva y su uso efectivo. La educación propicia en las personas actitudes de previsión y planeación; favorece una mayor capacidad de decisión, autonomía y libertad, lo que se expresa en todas las esferas de la vida privada y social; y fomenta el afán de logro y superación personal, así como una alta valoración parental de los hijos. Además, la formación escolar incrementa la capacidad de comprensión y manejo de la información disponible, que es una condición que favorece la difusión de innovaciones.

El avance educativo del país ha sido notable en las décadas pasadas. En 1997, el promedio de escolaridad alcanzado por la población de 15 años y más ascendió a 7.4 años de educación formal. En ese mismo año, el 10.4% de la población no había asistido a la escuela, 20.6% no había concluido la educación primaria, 18.6% terminó la instrucción primaria, 21.9% contaba con algún grado de secundaria o equivalente y el 28.5% tenía estudios posteriores a la secundaria. Cabe hacer notar que no se registran diferencias acentuadas entre hombre y mujeres en los niveles de escolaridad alcanzados: el número promedio de años de escolaridad fue de 7.7 años para los hombres y de 7.1 años para las mujeres. Asimismo, la proporción que representan las personas sin instrucción es mayor entre las mujeres que entre los hombres: 12.2 y 8.5%, respectivamente.⁵⁸

1.2 Fecundidad.

El descenso de la fecundidad que ha ocurrido en México desde mediados de los años sesenta es la manifestación más concreta del proceso de apropiación de la población general al control de su vida reproductiva. En estos años, la tasa global de fecundidad (TGF) alcanzó su máximo histórico, con valores por encima de siete hijos por mujer. Muy pocas personas, mayoritariamente de las clases media y alta de la sociedad, tenían conocimiento de los métodos modernos para regular la fecundidad y éstos eran accesibles sólo en algunos servicios privados. Por esta razón, fueron los grupos con más recursos económicos que residían en las grandes ciudades quienes iniciaron primero la regulación de su fecundidad. Posteriormente, a partir de 1974, con el cambio de la política de población y del impulso de los programas de planificación familiar, la fecundidad comenzó a descender vertiginosamente. En unos pocos años, esta pauta se generalizó a casi todos los grupos sociales: entre 1974 y 1980 la TGF descendió de seis a 4.7 hijos por mujer; descendió a casi cuatro hijos en 1985; alcanzó 2.9 hijos en 1994; registró 2.65 hijos en 1997 y se estima que en la actualidad asciende a 2.4 hijos por mujer (véase Figura 1.2.1)³⁶

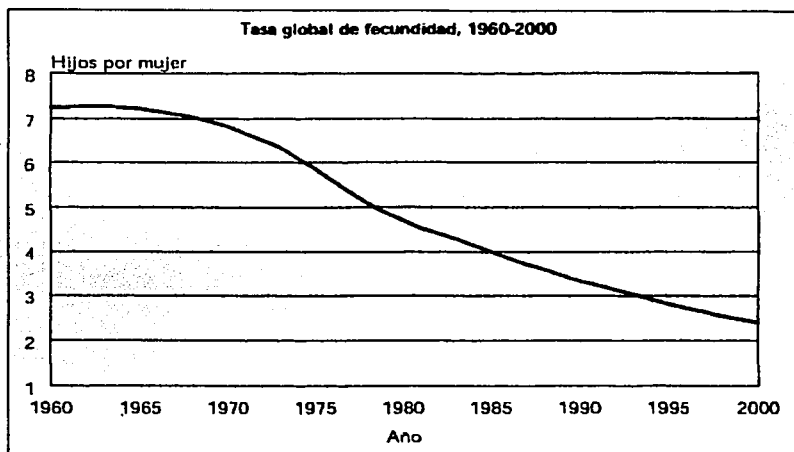


Figura 1.2.1 Tasa global de fecundidad (TGF), 1960-2000. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.³⁶

1.2.1 El cambio en el nivel y la estructura por edad de la fecundidad.

La numerosa descendencia que caracterizaba los patrones reproductivos de mediados de la década de los sesenta y principios de los setenta, originaba que las mujeres procrearan sus hijos(as) durante buena parte de su período fértil. El descenso de la fecundidad significó una reducción del tiempo en que las mujeres se dedicaban a la crianza de sus hijos(as): con una descendencia de siete hijos(as) las mujeres destinaban, en promedio, 25 años de su vida a la crianza de sus hijos(as), desde el momento en que nacía su primogénito(a) hasta que el último cumplía seis años de edad, en lugar de los poco más de diez años promedio que dedican con una fecundidad menor a tres hijos.

En la figura 1.2.2, se advierte que la disminución de la fecundidad se ha dado en todos los grupos de edades. Sin embargo, en los primeros años de la transición de la fecundidad, el descenso fue más rápido en los grupos de 25 a 29 años y de 30 a 34 años de edad, que en los grupos jóvenes. Entre 1982 y 1997, continuó el descenso de la fecundidad en todos los grupos de edades, aunque en el de 20 a 24 años fue más pronunciado. En este grupo la fecundidad de las mujeres se redujo de 168 nacimientos por mil mujeres a 140 por mil entre un año y otro. Por lo anterior, la contribución del grupo 20-24 a la TGF pasó del 27.1% en 1992 al 25.8% en 1997, siendo el grupo de 25 a 29 años el de mayor fecundidad, lo que sugiere que el patrón reproductivo está cambiando hacia una posposición del nacimiento del primer hijo(a) y un mayor espaciamiento en la progenie. Se ha estimado que entre 1974 y 1999, la edad media de las mujeres al nacimiento de su primer hijo aumentó casi cuatro años, al pasar de 19.8 a 23.8 entre 1974 y 1999. Asimismo, se ha producido un mayor espaciamiento de los nacimientos, lo que se manifiesta en el incremento del número promedio de años que transcurren entre dos partos consecutivos, de 4.1 a 5.7 en el mismo período.^{56,58}

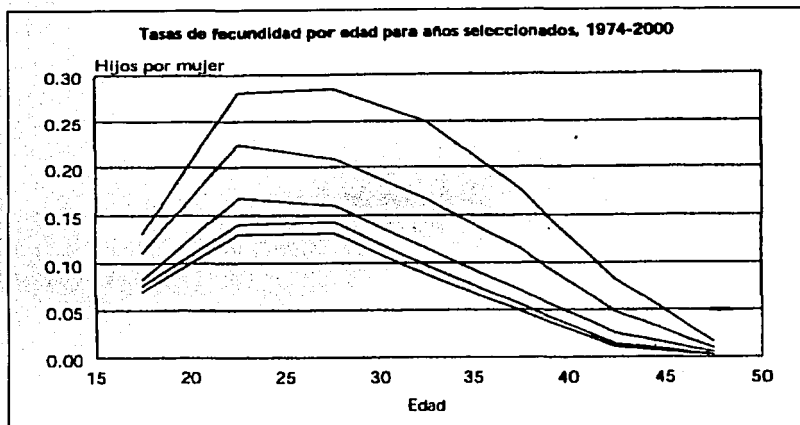


Figura 1.2.2 Tasas de fecundidad por edad para años seleccionados, 1974-2000. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población con base en las encuestas nacionales sociodemográficas.⁵⁶

1.3 Inicio de la vida reproductiva.

1.3.1 Edad a la primera unión.

La edad a la primera unión generalmente señala el tránsito de la adolescencia a la edad adulta y coincide o está cercana al momento de tener el primer hijo. El aumento de la edad al matrimonio, puede incidir de manera significativa en la salud reproductiva por varias razones. Por un lado, contribuye a posponer la edad al nacimiento del primer hijo, reduciendo el riesgo de un embarazo en mujeres que todavía no han alcanzado plena madurez fisiológica. Por otro, la unión a edades tempranas se asocia a menores oportunidades de desarrollo para las mujeres y a relaciones asimétricas de género e intergeneracionales que limitan su participación en las decisiones de su sexualidad y reproducción. Finalmente, el inicio del matrimonio a temprana edad se relaciona con patrones reproductivos de poco espaciamiento entre los hijos y una descendencia más numerosa al final de la vida reproductiva.

Los estudios recientes de los patrones de nupcialidad indican que en nuestro país se está produciendo un retraso gradual en la edad a la primera unión. El análisis del comportamiento de mujeres de diversas generaciones indica que el inicio de la vida en pareja en México se ha postergado alrededor de un año: la edad mediana a la primera unión de las mujeres nacidas entre 1953-1962 fue de 20.2 años; para la cohorte nacida entre 1963-1967, este valor ascendió a 20.8; y para la generación de 1968-1972 fue de 21.3 años.

Una tendencia más clara de la postergación de la primera unión puede apreciarse en la disminución del porcentaje de mujeres que contrae sus primeras nupcias a edades tempranas en las generaciones más jóvenes: mientras que cinco de cada diez mujeres (49.8%) nacidas entre 1953 y 1957 se unieron antes de los 20 años, esta misma proporción se redujo a cuatro de cada diez (40.5%) entre las mujeres de la generación 1968-1972. Por otro lado, el inicio de la vida marital ocurre principalmente entre los 16 y 19 años: mientras que alrededor de una de cada tres mujeres de las generaciones 1953-1957, 1958-1962 y 1963-1967 se unió en esas edades, esta proporción se redujo ligeramente a tres de cada diez mujeres de la cohorte 1968-1972. Sin embargo, se observa una reducción gradual en la proporción de mujeres que se unen antes de los 16 años de edad, de tal manera que entre las generaciones extremas este valor ascendió a 14.9 y 9.9%, respectivamente (véanse Figuras 1.3.1.1 y 1.3.1.2).^{56,57,58,60}

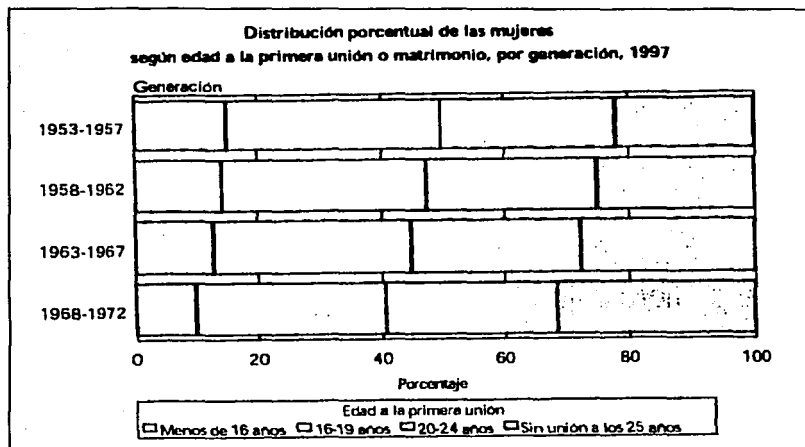


Figura 1.3.1.1 Distribución porcentual de las mujeres según edad a la primera unión o matrimonio, por generación, 1997. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.^{56,57}

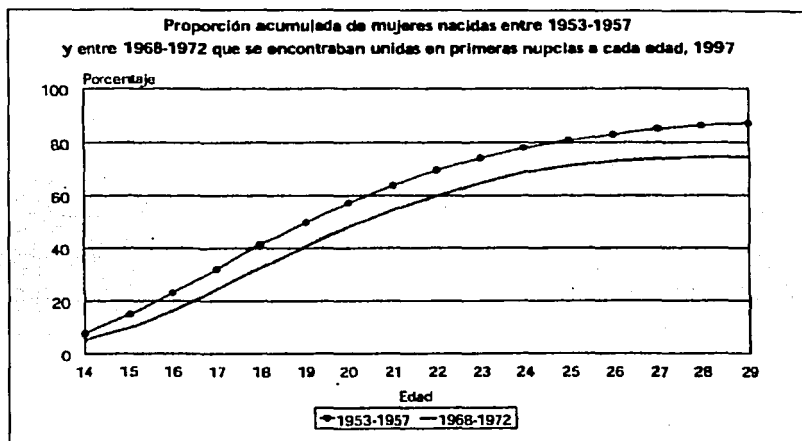


Figura 1.3.1.2 Proporción acumulada de mujeres nacidas entre 1953-1957 y entre 1968-1972 que se encontraban unidas en primeras nupcias a cada edad, 1997. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.^{57,58}

1.3.2 Intervalo protogenésico.

El tiempo que transcurre entre la primera unión y el nacimiento del primer hijo(a), es decir, el intervalo protogenésico, permite caracterizar una dimensión relevante de los patrones reproductivos. El análisis de este intervalo muestra que la mayor parte de las mujeres de cada una de las generaciones observadas tuvo su primer hijo(a) durante los primeros 18 meses de haberse iniciado la unión o matrimonio. Sin embargo, cerca de tres de cada diez mujeres (28.5%) de la generación más reciente tuvo a su primer hijo(a) entre los 18 y los 59 meses después de la unión, lo cual sugiere que la práctica de postergar la llegada del primer hijo(a) está empezando a extenderse entre la población mexicana (véase la Figura 1.3.2.1). Esta aparente falta de interés por postergar el nacimiento del primogénito(a) puede ser resultado del predominio de actitudes y valores favorables a la procreación inmediata, o bien, a que muchas parejas se unen cuando ya ha ocurrido el embarazo y no tienen la oportunidad de planear el momento de iniciar la crianza de los hijos(as).⁵⁶

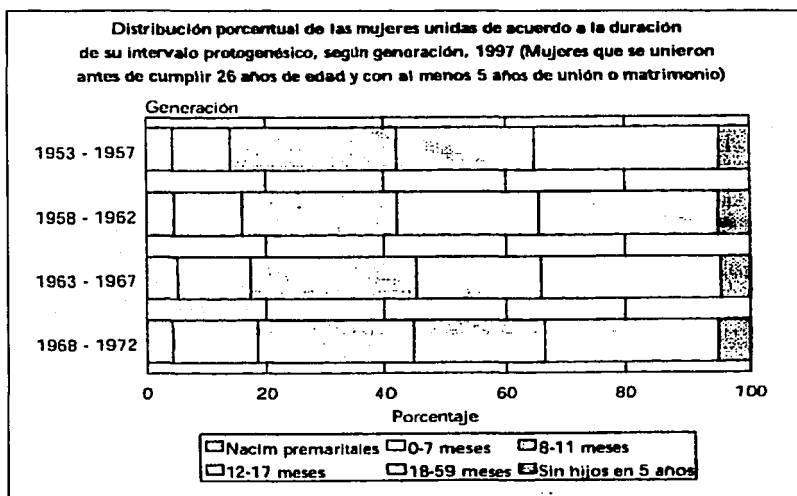


Figura 1.3.2.1 Distribución porcentual de las mujeres unidas de acuerdo a la duración de su intervalo protogenésico, según generación, 1997 (Mujeres que se unieron antes de cumplir 26 años de edad y con al menos 5 años de unión o matrimonio). Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.⁵⁶

1.3.2.1 Embarazo premarital.

En nuestro país, las mujeres unidas de las generaciones más jóvenes tienden a presentar una proporción ligeramente mayor de embarazos premaritales que las generaciones anteriores. Se entiende como mujeres con embarazo premarital a todas aquellas que tuvieron su primer nacimiento cuando se encontraban solteras o dentro de los primeros siete meses de la unión o matrimonio. En la generación más reciente la cifra asciende a 18.6%, mientras que en la generación más antigua es del 14%. Los datos disponibles sugieren que las concepciones dentro de los primeros siete meses de la unión o matrimonio están aumentando, al pasar del 9.7 al 14.4% entre las generaciones extremas.^{56,57,58,59}

Con el objeto de conocer con mayor precisión la incidencia del embarazo premarital, se calculó la probabilidad acumulada de que una mujer inicie el embarazo del primer hijo(a) estando soltera (ver Figura 1.3.2.1.1). En México se ha producido un aumento en la proporción de mujeres que se embarazan de su primogénito(a) bajo esa circunstancia, de tal manera que la probabilidad de tener un embarazo premarital antes de los 25 años de edad aumentó del 13.3% entre las mujeres de la generación 1953-1957 a 17.1% para las mujeres de la generación más reciente (1968-1972).^{59,60}

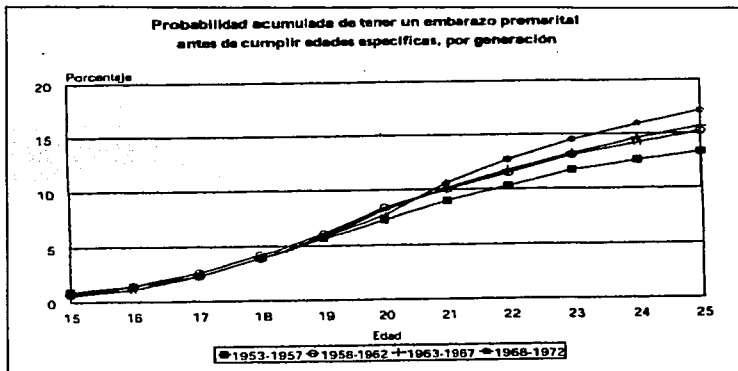


Figura 1.3.2.1.1 Probabilidad acumulada de tener un embarazo premarital antes de cumplir edades específicas, por generación. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.^{56,57}

2. PRÁCTICA ANTICONCEPTIVA.

2.1 Panorámica general de la práctica anticonceptiva en México.

El principal determinante de la disminución de la fecundidad ha sido la utilización de métodos anticonceptivos para espaciar o limitar la descendencia. En México, a raíz de la promulgación de la nueva Ley General de Población en 1974, se dio un acelerado proceso de difusión y utilización de la planificación familiar por parte de las parejas mexicanas. Con esta Ley, el Estado reconoció como una garantía individual el derecho de toda persona a decidir cuántos hijos(as) tener y cuándo tenerlos, y a disponer de la información y los medios para cristalizar sus preferencias reproductivas. En concordancia con lo establecido en la Ley General de Población vigente, la prestación de servicios de planificación familiar es gratuita en todas las instituciones del sector público.

2.2 Conocimiento de métodos anticonceptivos.

Uno de los requisitos indispensables para que las personas puedan ejercer su derecho a decidir cuántos hijos(as) tener y cuándo tenerlos es que conozcan los medios de regulación de la fecundidad, que dispongan de información suficiente acerca de cómo y dónde obtenerlos, de cuáles son los más convenientes de acuerdo con sus preferencias y condiciones personales, y acerca de su modo de operación para emplearlos de forma segura y efectiva.

Hasta 1970, el conocimiento de los métodos anticonceptivos era relativamente escaso y se concentraba entre los integrantes de los estratos sociales más acomodados de las grandes ciudades. La difusión de la planificación familiar, a través de los agentes institucionales de salud y de los medios masivos de comunicación, facilitó que el conocimiento de los métodos anticonceptivos se extendiera a todas las regiones del país, incluso entre los grupos menos favorecidos de la sociedad. Así, se estima que alrededor del 44% de las mujeres residentes en las zonas rurales conocía en 1969 al menos un método anticonceptivo; en 1976 se alcanzó cerca de 80% y se incrementó a 83.1 y 86.5% en 1987 y 1992, para situarse en 90% en 1997. En las áreas urbanas, ya desde 1976 se apreciaba un conocimiento generalizado de métodos anticonceptivos (95.8% en 1976 y 98.5% en 1997). En el ámbito nacional, el conocimiento de al menos un

método anticonceptivo por parte de las mujeres en edad fértil pasó del 89% en 1976 a 94.9% en 1992, y ascendió a 96.6% en 1997 (véase Cuadro 2.2.1).^{56,57,58,59,60}

Cuadro 2.2.1

Porcentaje de mujeres en edad fértil que conoce al menos un método anticonceptivo, según características seleccionadas, 1976-1997

| ANO | 1976 | 1987 | 1992 | 1997 |
|------------------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| Total (%) | 89.0 | 92.9 | 94.9 | 96.6 |
| Grupos de edad | | | | |
| 15-19 | 79.8 | 89.8 | 90.9 | 93.4 |
| 20-24 | 88.8 | 94.0 | 96.1 | 96.8 |
| 25-29 | 93.1 | 95.2 | 97.1 | 98.2 |
| 30-34 | 91.3 | 94.3 | 97.5 | 97.7 |
| 35-39 | 89.7 | 92.6 | 95.9 | 97.4 |
| 40-44 | 86.1 | 93.3 | 95.4 | 97.4 |
| 45-49 | 85.9 | 92.5 | 93.1 | 95.8 |
| Paridad | | | | |
| 0 | 86.6 | 91.3 | 92.5 | 94.1 |
| 1 | 89.7 | 94.3 | 96.7 | 98.2 |
| 2 | 91.8 | 95.5 | 97.8 | 99.0 |
| 3 | 91.3 | 95.2 | 97.6 | 98.8 |
| 4 y más | 88.6 | 92.4 | 94.7 | 96.5 |
| Escolaridad | | | | |
| Sin escolaridad | | | | |
| Primaria incompleta | 73.7 | 72.9 | 79.5 | 82.4 |
| Primaria completa | 88.9 | 90.3 | 92.7 | 93.8 |
| Secundaria y más | 95.6 | 95.4 | 95.1 | 95.8 |
| | 99.1 | 98.9 | 98.7 | 99.4 |
| Lugar de residencia | | | | |
| Rural | 78.6 | 83.1 | 86.5 | 90.0 |
| Urbano | 95.8 | 96.4 | 97.7 | 98.5 |
| Condición de habla indígena | | | | |
| Habla | No disponible | No disponible | No disponible | |
| No habla | No disponible | No disponible | No disponible | 79.5 |
| | | | | 97.8 |

Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.^{56,57,58,60}

De la información presentada en el cuadro 2.2.1, puede observarse que entre 1992 y 1997 todos los grupos de edad registraron incrementos en el conocimiento de métodos anticonceptivos, aunque cabe resaltar que éstos fueron mayores en el período 1976-1992. En ambos períodos, las mujeres adolescentes y las que estaban al final de su vida reproductiva fueron las que presentaron los aumentos porcentuales más significativos. Sin embargo, el grupo de 15-19 años continúa siendo el más rezagado en esta materia: en 1997, el 6.6% no conocía medio alguno para regular

su fecundidad. En el último año de referencia, los niveles de conocimiento se registraron en el grupo de mujeres de 25 a 44 años (alrededor del 88%).

Entre 1976 y 1992 todas las mujeres, independientemente de su paridad, registraron incrementos entre seis y siete puntos porcentuales en el conocimiento de métodos anticonceptivos. Aunque con incrementos menos acentuados, una situación similar se presentó en el período 1992-1997⁵⁵. En este último período, los mayores niveles de conocimiento se registraron en los grupos de mujeres con uno, dos y tres hijos(as), en los cuales casi el 100% conocía al menos un método anticonceptivo, mientras que en el de las mujeres sin hijos este porcentaje es menor (94.1%).^{56,57,58}

2.2.1 Distribución del uso de los diferentes métodos anticonceptivos.

El rezago social y la pobreza han condicionado en buena medida el conocimiento de métodos anticonceptivos. En 1997, los niveles más bajos de conocimiento fueron observados en los grupos de mujeres sin escolaridad (82.4%), y particularmente, entre las mujeres que hablan alguna lengua indígena (79.5%).^{56,58}

La pastilla ha sido, desde el inicio de la difusión de la planificación familiar en México, el método anticonceptivo más conocido y en 1997 continuó siendo el más popular: mientras que en 1976, el 82.3% de las mujeres conocía o había escuchado hablar de ellas, este porcentaje se incrementó a 91.% en 1992 y ascendió a 93.6% en 1997 (ver Figura 2.2.1.1)

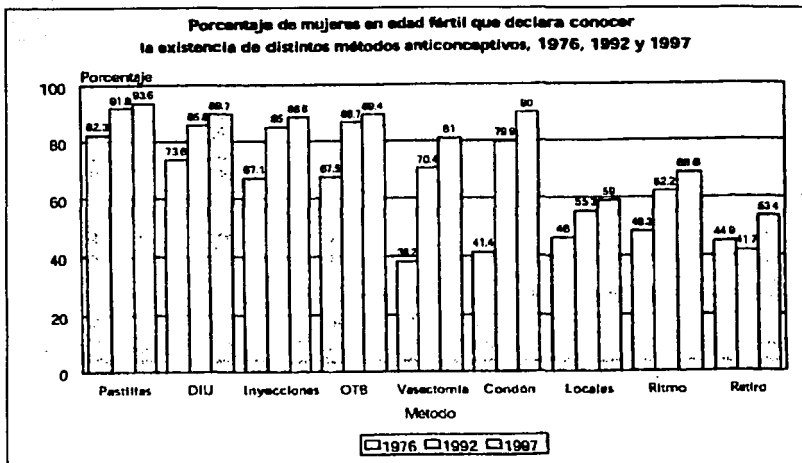


Figura 2.2.1.1 Porcentaje de mujeres en edad fértil que declara conocer la existencia de distintos métodos anticonceptivos, 1976, 1992 y 1997. Fuente: *Estimaciones del Consejo Nacional de Población con base en las encuestas nacionales demográficas.*⁶⁰

Sin embargo, como puede apreciarse en la figura 2.2.1.1, el conocimiento de otros métodos modernos también se generalizó, de tal manera que en 1997 alrededor de nueve de cada diez mujeres declaró conocer el dispositivo intrauterino (DIU) (89.7%), la oclusión tubaria bilateral (OTB) o esterilización femenina (89.4%), y la inyección (88.6%). Asimismo, el conocimiento de los métodos masculinos, que en 1976 eran identificados por sólo alrededor el 40% de las mujeres entrevistadas, en 1997 se incrementó a 90% en el caso del condón o preservativo y a 81% en el caso de la vasectomía. El conocimiento de los métodos locales y los métodos naturales (ritmo y *coitus interruptus*) también aumentó en los períodos de referencia.^{56,60}

El bajo conocimiento de métodos de planificación familiar en el ámbito rural se refleja en todos los métodos anticonceptivos (ver Cuadro 2.2.1.1). El único método que poco más de ocho de cada diez mujeres declararon conocer en 1997 fue la pastilla, siguiendo en orden de importancia la OTB, el DIU y la inyección, cuyo conocimiento fue reportado por poco menos de ocho de cada diez mujeres en edad fértil. En el caso de los métodos de uso directo del varón, tres

cuartas partes (74.1%) de las mujeres rurales declaró conocer el preservativo y sólo seis de cada diez (61.8%) conocía la vasectomía. Para el resto de los métodos (naturales, locales y Norplant) los porcentajes de conocimiento fueron muy bajos, llegando a ser inferiores al 45%.

Cuadro 2.2.1.1
Porcentaje de mujeres en edad fértil que declara conocer la existencia de distintos métodos anticonceptivos por lugar de residencia, 1992 y 1997.

| AÑO | 1992 | | | 1997 | | |
|---------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | Total | Rural | Urbano | Total | Rural | Urbano |
| Pastillas | 91.8 | 81.4 | 95.2 | 93.6 | 84.7 | 96.2 |
| DIU | 85.8 | 70.5 | 90.8 | 89.7 | 78.3 | 93.0 |
| Inyecciones | 85.0 | 73.6 | 88.8 | 88.6 | 79.2 | 91.3 |
| Norplant | 6.4 | 2.3 | 7.8 | 14.8 | 7.5 | 16.9 |
| OTB | 86.7 | 73.9 | 90.9 | 89.4 | 79.4 | 92.3 |
| Vasectomía | 70.4 | 45.5 | 78.6 | 81.0 | 61.8 | 86.6 |
| Preservativos | 79.9 | 54.6 | 88.3 | 90.0 | 74.1 | 94.6 |
| Espemicidas | 55.3 | 30.1 | 63.6 | 59.0 | 33.9 | 66.2 |
| Ritmo | 62.2 | 38.2 | 70.2 | 68.6 | 45.4 | 75.3 |
| <i>Coitus interruptus</i> | 41.7 | 23.1 | 47.9 | 53.4 | 34.3 | 59.0 |

Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población realizadas entre 1992 y 1997.⁵⁶

2.2.1.1 Prevalencia de uso de métodos anticonceptivos.

El aumento de la prevalencia de uso de métodos anticonceptivos no se ha dado con la misma intensidad a lo largo del tiempo. Entre 1976 y 1982, la práctica anticonceptiva siguió una rápida tendencia ascendente, con un aumento entre dos y tres puntos porcentuales por año^{55,58}. En el período comprendido entre 1982 y 1987 se presentó una marcada desaceleración en el ritmo de crecimiento de este indicador, el cual presentó una ligera recuperación en el quinquenio siguiente, con aumentos de dos puntos porcentuales en promedio por año entre 1987 y 1992, para posteriormente retomar un crecimiento menos acelerado de un punto porcentual entre 1992 y 1997.^{59,60}

En asociación directa con el aumento en la prevalencia anticonceptiva, la proporción de mujeres que nunca ha utilizado métodos anticonceptivos disminuyó significativamente en las últimas dos décadas, al pasar de 48 de cada 100 mujeres en 1979 a 16 de cada 100 en 1997 (ver Figuras 2.2.1.2.1 y 2.2.1.2.2).⁵⁶

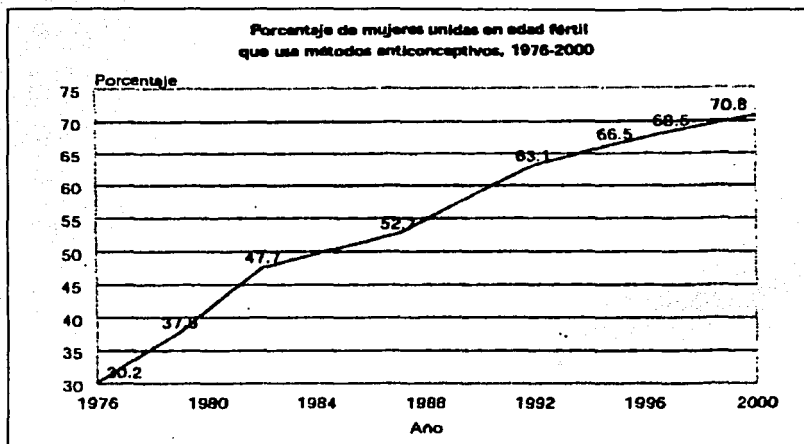


Figura 2.2.1.2.1 Porcentaje de mujeres unidas en edad fértil que usa métodos anticonceptivos. Fuente: *Estimaciones del Consejo Nacional de Población con base en las encuestas nacionales demográficas.*⁵⁶

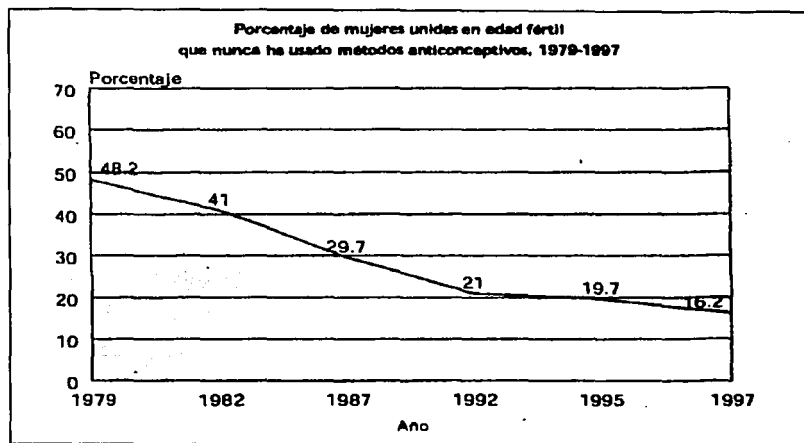


Figura 2.2.1.2.2 Porcentaje de mujeres unidas en edad fértil que nunca ha usado métodos anticonceptivos; 1979-1997. Fuente: *Estimaciones del Consejo Nacional de Población con base en las encuestas nacionales demográficas.*⁵⁶

2.2.1.2 Uso por los adolescentes de los métodos anticonceptivos.

Como resultado de las acciones de planificación familiar, el uso de los métodos anticonceptivos entre la población adolescente ha aumentado de manera importante en los últimos 20 años. Según diversas encuestas sociodemográficas⁶⁰, en 1976 sólo el 14.2% del total de adolescentes que habían iniciado su vida sexual utilizaba un método anticonceptivo para regular su fertilidad. Este porcentaje se incrementó a 36.1% en 1995, como se muestra en el Cuadro 2.2.1.2.1.

Cuadro 2.2.1.2.1
Prevalencia de uso de anticonceptivos en la adolescencia

| AÑO | COBERTURA (%) |
|------|---------------|
| 1976 | 14.2 |
| 1979 | 19.2 |
| 1982 | 20.8 |
| 1987 | 30.2 |
| 1995 | 36.1 |

Fuente: Encuestas nacionales sociodemográficas.⁶⁰

En consecuencia, la tasa específica de fecundidad en mujeres de 15 a 19 años ha tenido una tendencia a la baja; sin embargo, el hecho de que ocurran anualmente más de 380 nacimientos de madres adolescentes, pone de manifiesto la impostergable necesidad de fortalecer las acciones en educación y desarrollo social con la participación de varios sectores y con una activa participación comunitaria. Las tasas específicas de fecundidad por grupos de edad, para los años 1970-1995, se muestran en la Figura 2.2.1.2.1.

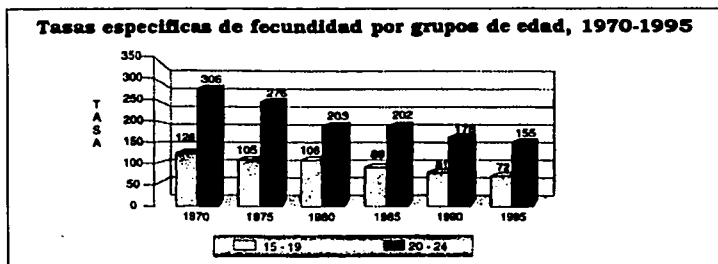


Figura 2.2.1.2.1 Tasas específicas de fecundidad por grupos de edad, 1970-1995. Fuente: Encuestas nacionales sociodemográficas.⁶⁰ *Tasa por 1000 mujeres de grupo de edad.

La tasa específica de fecundidad para adolescentes de 15 a 19 años se muestra en la Figura 2.2.1.2.2

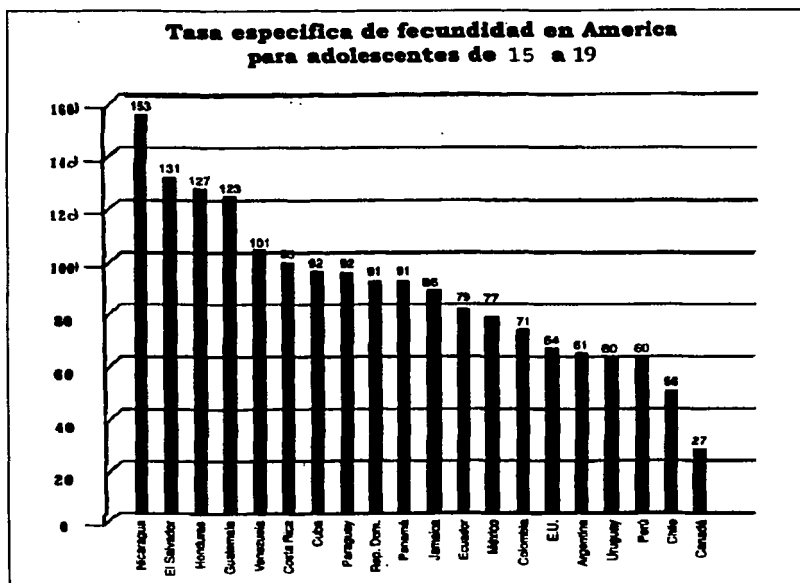


Figura 2.2.1.2.2 Tasa específica de fecundidad en América para adolescentes de 15 a 19 años. Fuente: *Population Action International*.⁶⁰

La Figura anterior nos permite comparar cuál es la ubicación de México entre los países de América con respecto a la tasa específica de fecundidad del grupo de adolescentes de 15 a 19 años. Refleja una actividad sexual precoz entre la población adolescente de este rango de edades y, resalta la importancia de difundir información sobre la existencia de métodos anticonceptivos, así como el uso adecuado para cada uno de ellos.

2.3 Demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos.

La demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos, es decir, mujeres expuestas a un embarazo que no hacen uso de método anticonceptivo alguno, a pesar de su deseo expreso de querer limitar o espaciar su descendencia, ha disminuido sistemáticamente en los últimos años. De acuerdo con los datos disponibles, la demanda total de métodos anticonceptivos, es decir, la suma de la demanda efectiva (compuesta por las usuarias de anticonceptivos) y la demanda insatisfecha, se incrementó de 77.8% en 1987 a 80.6% en 1997 entre las mujeres unidas en edad fértil (ver Figura 2.3.1). De estos totales, la demanda efectiva representó 52.7 y 68.5%, y la demanda insatisfecha 25.1 y 12.1% en esos años, respectivamente. Con base en esta información, puede inferirse que el incremento observado en la demanda efectiva (15.8 puntos porcentuales) entre 1987 y 1997 se debió fundamentalmente a la considerable disminución de la demanda insatisfecha (13 puntos porcentuales) y una proporción significativamente menor al aumento de la demanda total (2.8 puntos porcentuales).⁵⁶

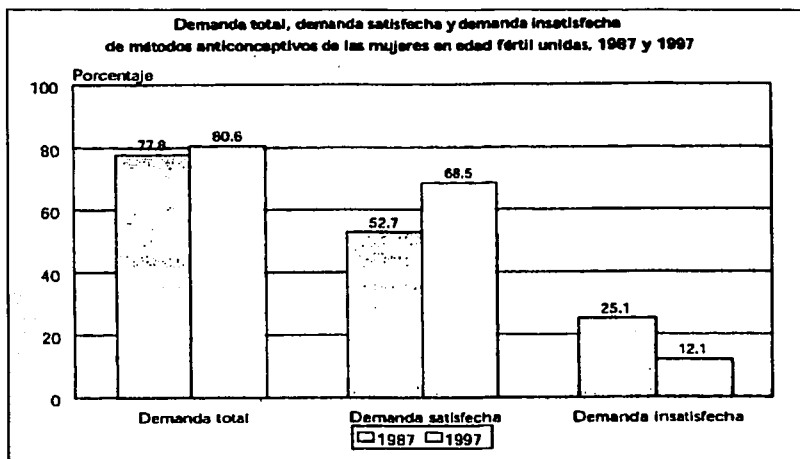


Figura 2.3.1 Demanda total, demanda satisfecha y demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos de las mujeres en edad fértil unidas, 1987 y 1997. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.^{56,57}

El rezago social y la pobreza también condicionan fuertemente la satisfacción de las necesidades de métodos anticonceptivos. A pesar de que ha sido significativa la reducción de la demanda insatisfecha de las mujeres rurales (de 45.7% a 22.2%), continúan siendo acentuadas las diferencias con respecto a aquellas con mayores niveles de escolaridad y residentes de las áreas urbanas, quienes registraron una cifra menor al 9%. Entre las mujeres que hablan alguna lengua indígena, la demanda insatisfecha asciende a 25.8% (véase Cuadro 2.3.1 y Figura 2.3.2).

Cuadro 2.3.1
Demanda insatisfecha de planificación familiar de las mujeres en edad fértil, según características seleccionadas, 1987 y 1997.

| Características de la madre | 1987 | | | 1997 | | |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|
| | Total | Espaciar | Limitar | Total | Espaciar | Limitar |
| Total | 25.1 | 12.1 | 13.0 | 12.1 | 6.9 | 5.2 |
| Grupos de edad | | | | | | |
| 15-19 | 33.8 | 27.2 | 6.6 | 26.7 | 23.8 | 2.9 |
| 20-24 | 31.3 | 21.1 | 10.2 | 21.1 | 17.0 | 4.1 |
| 25-29 | 31.4 | 15.8 | 15.6 | 14.7 | 9.0 | 5.7 |
| 30-34 | 23.5 | 8.1 | 15.4 | 10.3 | 4.4 | 5.9 |
| 35-39 | 23.7 | 8.1 | 15.6 | 9.3 | 2.6 | 6.7 |
| 40-44 | 15.5 | 3.1 | 12.4 | 6.6 | 1.0 | 5.6 |
| 45-49 | 9.7 | 1.2 | 8.5 | 3.2 | 0.3 | 2.9 |
| Paridad | | | | | | |
| 0 | 8.3 | 8.1 | 0.2 | 11.8 | 10.9 | 0.9 |
| 1 | 25.8 | 22.4 | 3.4 | 17.3 | 15.3 | 2.0 |
| 2 | 21.4 | 12.8 | 8.6 | 10.6 | 6.6 | 4.0 |
| 3 | 22.0 | 11.7 | 10.3 | 8.6 | 4.1 | 4.5 |
| 4 y más | 30.2 | 9.1 | 21.1 | 12.8 | 3.5 | 9.3 |
| Lugar de residencia | | | | | | |
| Rural | 45.7 | 23.7 | 22.0 | 22.2 | 12.8 | 9.4 |
| Urbana | 15.9 | 6.9 | 9.0 | 8.9 | 5.0 | 3.9 |
| Escolaridad | | | | | | |
| Sin escolaridad | 45.8 | 20.6 | 25.2 | 21.8 | 9.3 | 12.5 |
| Primaria incompleta | 32.7 | 15.1 | 17.6 | 16.9 | 8.8 | 8.1 |
| Primaria completa | 17.8 | 9.1 | 8.7 | 12.4 | 7.7 | 4.7 |
| Secundaria y más | 10.4 | 6.2 | 4.2 | 8.0 | 5.2 | 2.8 |
| Condición de habla indígena | | | | | | |
| Habla | n.d. | n.d. | n.d. | 25.8 | 14.6 | 11.3 |
| No habla | n.d. | n.d. | n.d. | 11.0 | 6.3 | 4.7 |

*n.d. = No disponible. Fuente: Estimaciones del Consejo Nacional de Población.³⁶

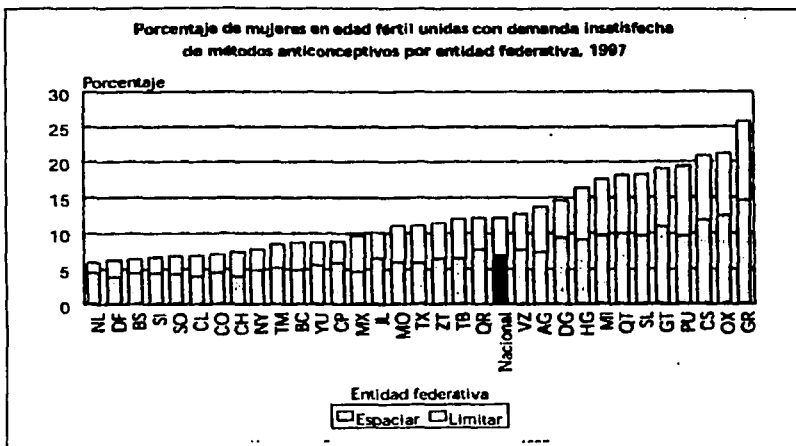


Figura 2.3.2 Porcentaje de mujeres en edad fértil unidas con demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos por entidad federativa, 1997. Fuente: *Estimaciones del Consejo Nacional de Población.*⁵⁶

Lo anterior permite proponer el desarrollo de una nueva alternativa anticonceptiva que satisfaga la demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos cuyo costo sea asequible para la gran parte de la población, seguro, fácil de aplicar, sin efectos secundarios, lo cual son características que las encuestas sociodemográficas han mostrado debe poseer un producto anticonceptivo.

3. DISEÑO DE EXPERIMENTOS TIPO FACTORIAL 2^k .

3.1 Definición de experimento diseñado.

El diseño de experimentos es considerado como una prueba o serie de pruebas en las cuales se inducen cambios deliberados en las variables de entrada de un proceso o sistema, de manera que sea posible observar e identificar las causas de los cambios en la variable de respuesta.⁶¹

El proceso o sistema en estudio puede representarse según se muestra en la Figura 3.1. Puede visualizarse el proceso como una combinación de máquinas, métodos, personas y otros recursos que transforman alguna entrada en una salida que tiene una o más variables observables.

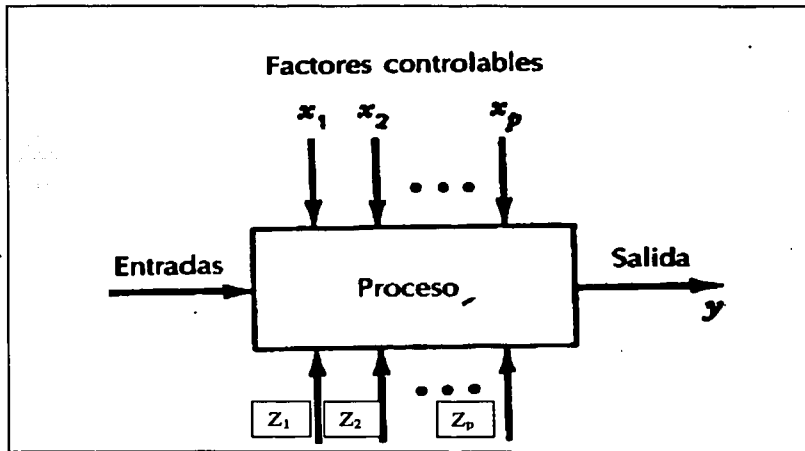


Figura 3.1 Modelo general de un proceso o sistema.⁶¹

3.1.1 Objetivos del experimento.

Dado que algunas variables del proceso, X_1, X_2, \dots, X_p (donde p es la i ésima variable controlable), son variables controlables y otras, Z_1, Z_2, \dots, Z_q (donde q es la i ésima variable no controlable), son variables no controlables, el experimento debe centrarse en los siguientes objetivos:⁶¹

1. Determinar cuáles variables controlables tienen mayor influencia en la variable de respuesta.
2. Determinar el mejor valor de las variables controlables que influyen sobre las variables de respuesta, de modo que ésta tenga un valor lo más cercano posible al valor de especificación deseado.
3. Determinar el mejor valor de la variable controlable para obtener una mínima variabilidad de la variable de respuesta.
4. Determinar el valor más adecuado de la variable controlable para minimizar los efectos de las variables no controlables.

Los métodos de diseño experimental tienen, por tanto, una participación fundamental en el desarrollo de procesos, así como en el mejoramiento de éstos, para optimizar su rendimiento. En muchos casos, el objetivo puede ser desarrollar un proceso consistente o robusto, entendiendo aquél como el proceso que es afectado mínimamente por las fuentes de variables no controlables.

3.1.2 Ventajas de aplicar el diseño experimental en el desarrollo de un proceso.

La aplicación de técnicas del diseño de experimentos en las primeras etapas del desarrollo de un proceso o producto puede tener como resultado los siguientes beneficios^{61,62}:

1. Obtener un proceso o producto con buenos rendimientos:
2. Menor variabilidad y mayor apego a las características de desempeño nominales u objetivo del proceso.

3. Disminución en el tiempo dedicado al desarrollo.
4. Disminución de los costos globales.
5. Obtener un producto de mayor confiabilidad.

3.1.3 Directrices para la optimización sistemática de procesos mediante el uso del diseño experimental.

Antes de iniciar el desarrollo de un proceso o producto, es aconsejable que todos los participantes en el proyecto tengan en claro qué fenómenos son los que van a ser estudiados, cómo se van a recopilar los datos y, aunque de modo cualitativo, cómo se van a analizar los datos obtenidos.^{61,62} Bajo el esquema anterior, las directrices básicas son las siguientes:

1. **Comprensión y planteamiento del problema:** Aunque este punto pudiese parecer obvio, en la práctica no es sencillo darse cuenta de que el problema en estudio requiere experimentación para proponer objetivos fehacientes y proponer un planteamiento claro y aceptable del mismo.
2. **Elección de factores y niveles para la variable(s) controlable(s) más importantes:** El experimentador debe elegir los factores que variarán en el experimento, los intervalos de dicha variación y los niveles a los cuales se llevará a cabo el experimento. También debe considerarse la forma en que se controlarán estos factores para mantenerlos en niveles deseados y cómo se les medirá.
3. **Selección de la variable(s) de respuesta más adecuada(s):** Al seleccionar ésta(s), el experimentador debe estar seguro de que la respuesta a ser medida proporcione realmente información útil acerca del problema en estudio.
4. **Elección del diseño de experimentos:** En esta etapa, es necesario considerar el tamaño muestral (número de repeticiones), seleccionar un orden adecuado para los ensayos experimentales y determinar si hay alguna restricción en la aleatorización. Deben considerarse los objetivos experimentales al elegir el diseño.

5. **Ejecución del experimento:** Debe vigilarse todo el proceso cuidadosamente para asegurar que todo se realice conforme lo planeado.
6. **Recopilación y análisis de datos:** Debe emplearse métodos estadísticos para analizar los datos obtenidos, de modo que los resultados y conclusiones sean objetivos y no apreciativos.
7. **Conclusiones y recomendaciones:** Una vez que se han analizado los datos, el experimentador debe formular conclusiones que le permitan recomendar las acciones subsiguientes. También deben realizarse corridas de seguimiento y pruebas de confirmación para validar las conclusiones del experimento.

3.2 Experimentos factoriales.

Se basan en la variación simultánea de todos los factores en un número limitado de niveles⁶³. Este tipo de experimentación es importante al iniciar el estudio de un problema para conocer los factores que más influencia tienen sobre la variable de respuesta y determinar sus rangos de influencia, así como la interacción de los factores^{62,63}.

3.2.1 Algoritmo de Yates para el diseño factorial 2^k .

Una vez identificadas las variables controlables más importantes, se asume que éstas se experimentarán a dos niveles: mínimo y máximo^{61,62}. Debe notarse que se utilizan valores codificados y (-) corresponde al nivel mínimo y (+) corresponde al nivel máximo⁶³. Como ya se ha mencionado, una premisa esencial de cualquier diseño experimental es la aleatorización de los experimentos. El número de réplicas viene dado por 2^k , donde k es el número de variables controlables. Considerando lo anterior, puede proponerse el siguiente cuadro general (Cuadro 3.2.1.1) que muestra el diseño factorial a 2 niveles para un diseño factorial 2^3 .

Cuadro 3.2.1.1
Cuadro general para un diseño factorial 2^3 con dos niveles de experimentación^{61,62,63}.

| EXPERIMENTO | FACTORES | | | VARIABLE DE RESPUESTA |
|-------------|----------|-------|-------|-----------------------|
| | X_1 | X_2 | X_3 | |
| (1) | - | - | - | Y_1 |
| A | + | - | - | Y_2 |
| B | + | + | - | Y_3 |
| C | - | + | - | Y_4 |
| AB | - | - | + | Y_5 |
| AC | + | - | + | Y_6 |
| BC | + | + | + | Y_7 |
| ABC | - | + | + | Y_8 |

La figura geométrica que se obtiene en un diseño factorial 2^3 se muestra en la Figura 3.2.1.1

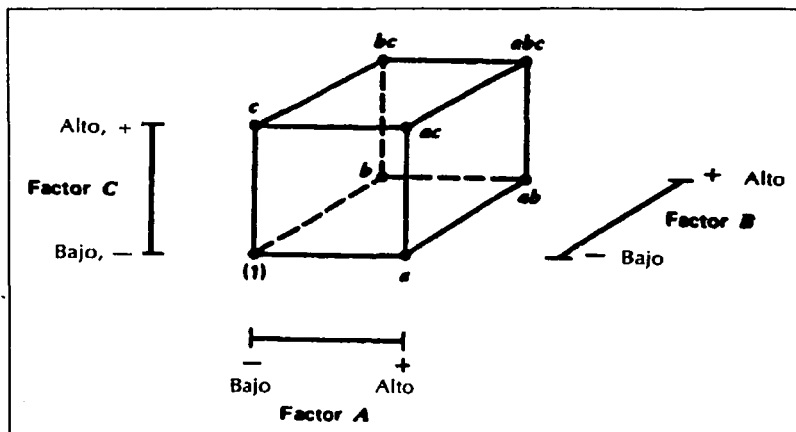


Figura 3.2.1.1 Modelo geométrico para un diseño factorial 2^3 .⁶¹

3.2.2 Análisis de los datos mediante el algoritmo de Yates.

El análisis del conjunto de datos obtenidos bajo el algoritmo de Yates involucra las siguientes etapas^{61,63}:

1. **Análisis gráfico:** Es el primer análisis que se realiza. El número de factores determina la figura geométrica a analizar (si se trata de 2 factores, la figura geométrica a analizar es un cuadrado y si se trata de 3 factores, la figura geométrica a analizar es un cubo).
2. **Análisis estadístico:** Involucra el análisis numérico, que con la ayuda de un análisis de varianza (ANOVA), se obtiene un modelo matemático predictivo.
3. **Predicciones:** Con base en el modelo matemático obtenido, se realizan las predicciones y/o correcciones pertinentes.

3.2.2.1 Ecuaciones matemáticas que se utilizan en el algoritmo de Yates para obtener un modelo matemático.

Se describe a una variable de respuesta R mediante el siguiente modelo matemático:

$$R = X_T + aA + bB + \dots + \epsilon$$

Donde:

- R = Variable de respuesta
- X_T = Promedio total de datos
- a = Efecto de la variable A
- b = Efecto de la variable B
- ϵ = Error

Para estimar el efecto de cada una de las variables se emplean las ecuaciones que se muestran en el Cuadro 3.2.2.1.1

Cuadro 3.2.2.1.1

Ecuaciones matemáticas utilizadas para la obtención de un modelo matemático predictivo sobre la variable de respuesta R según el algoritmo de Yates^{61,62,63}.

| |
|--|
| $\text{Efecto} = \frac{\text{Columna "n"}}{k * 2^{n-1}}$ |
| $\text{Suma de cuadrados} = \frac{(\text{Columna "n"})^2}{k * 2^n}$ |
| $\text{Suma de cuadrados medios} = \frac{\text{Suma de cuadrados}}{\text{grados de libertad}}$ |
| $\text{Grados de libertad del error} = 2^n (k - 1)$ |
| $\text{Grados de libertad del total} = (2^n k) - 1$ |
| $F \text{ calculada} = \frac{\text{Suma de cuadrados medios del dato "j"}}{\text{Suma de cuadrados medios del error}}$ |

4. GELES COMO FORMAS FARMACÉUTICAS.

4.1 Definición de gel.

Se define a un gel como un sistema semisólido el cual contiene partículas dispersas (éstas pueden ser de naturaleza inorgánica u orgánica) embebidas en un líquido.²⁰ Debido a que se trata de un sistema compuesto por dos fases²² (un sólido, fase discontinua, insoluble disperso en una fase continua líquida), los geles exhiben características intermedias entre los líquidos y los sólidos.^{22,64}

4.1.1 Usos en formas farmacéuticas y cosméticas.

El uso de los geles tanto en formas farmacéuticas como en formas cosméticas está muy difundido.⁶⁴ Desde el punto de vista farmacéutico se utilizan como medios de transporte para principios activos contenidos en formas farmacéuticas de administración oral, para la administración tópica de principios activos directamente en la piel, membranas mucosas o en los ojos, así como para la administración de principios activos cuya liberación debe ser sostenida.^{20,22,64}

4.1.2 Clasificación.

La clasificación está determinada por diversos criterios, los cuales son:^{22,64}

1. **Naturaleza de la fase coloidal:** En este rubro, los geles se clasifican como inorgánicos (por ejemplo, los geles de bentonita) u orgánicos (geles compuestos por gomas naturales, goma de acacia, goma de xantana, derivados de la celulosa, entre otros) dependiendo de la naturaleza de la fase coloidal.
2. **Naturaleza del disolvente o fase continua:** En este punto, se clasifican como hidrogeles si la fase continua es agua, o bien, como organogeles si la fase continua es un disolvente orgánico.

3. **Contenido del disolvente:** Los geles sólidos con una baja concentración del disolvente se denominan xerogeles (como la gelatina seca), los cuales son producidos mediante evaporación del disolvente, dejando un arreglo molecular sólido (a menudo denominada matriz). Pueden retornar al estado de gel agregando un disolvente que hinche la matriz.

La representación de la estructura de los geles se presenta en la Figura 4.1.2.1:

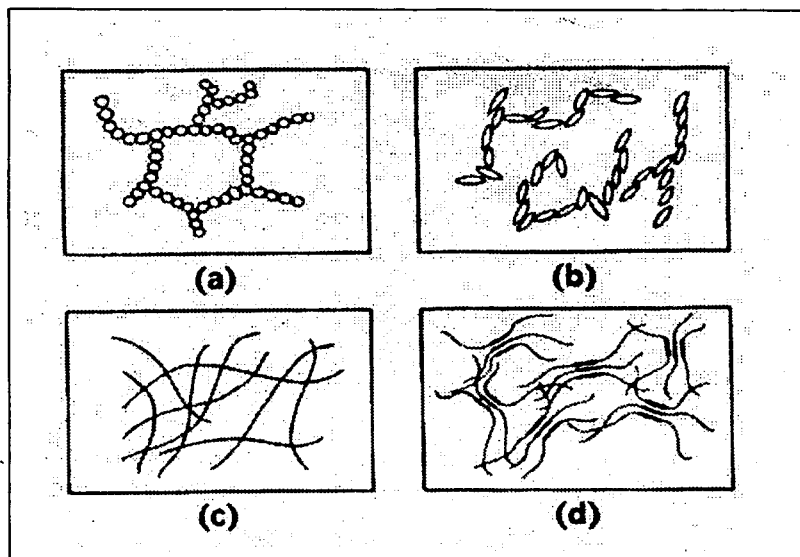


Figura 4.1.2.1 Representación de la estructura de los geles. (a) Partículas floculadas en una estructura de gel en dos fases; (b) Red de partículas elongadas formando la estructura del gel; (c) Fibras alargadas tal y como se encuentran en los jabones líquidos; (d) Regiones cristalinas y amorfas en un gel de carboximetilcelulosa.²²

4.1.3 Características de los geles.

Los agentes gelificantes para uso cosmético y farmacéutico deben ser seguros, no reactivos con otros componentes de la formulación. En lo que respecta al producto terminado, éste no debe mostrar cambios apreciables en su viscosidad bajo cambios de temperatura, o bien, como consecuencia de su manejo. Debido a que muchos geles, particularmente los elaborados con polisacáridos, son susceptibles de degradación microbiana, en su formulación debe incluirse algún conservador adecuado (parabenos, surfactantes, entre otros) que impida una contaminación microbiana y, subsecuentemente, la pérdida de las características del gel.^{25,28,47,64}

4.1.3.1 Efectos reológicos de geles anticonceptivos en el sitio de aplicación.

Las formulaciones anticonceptivas en gel han sido creadas para su aplicación en la porción posterior de la vagina con el propósito de prevenir el transporte de los espermatozoides desde el cérvix al sitio de fertilización.⁴⁷ Por ello, es de gran interés el desarrollar formulaciones con un propósito profiláctico y anticonceptivo.^{3,4,28,29,31} Es deseable que estos geles no sólo bloqueen el acceso de los espermatozoides al tracto reproductor femenino, sino que también deben prevenir infecciones del epitelio vaginal.^{34,36,40} Las propiedades de estas formulaciones deben ser tales que, cuando sean aplicadas, cubran totalmente el epitelio vaginal, además de permanecer en el sitio de aplicación el tiempo suficiente para proporcionar una protección adecuada a vectores infecciosos como lo son los virus y las bacterias.⁵⁰ Esta protección se logra mediante la liberación tópica de compuestos bioactivos tales como los microbicidas (cloruro de benzalconio, derivados de benzaldehído, sulfosuccinato sódico de dioctilo) y por la formación de una barrera física proporcionada por el mismo gel.⁵¹

In vivo, a partir de la aplicación hasta el periodo post-coital, la formulación experimentará una gran variedad de fuerzas de fricción debidas a:^{47,48}

1. Movimientos de la superficie del endotelio vaginal.
2. Fuerzas gravitacionales.
3. Flujos capilares.
4. Coito *per se*.

Adicionalmente, pueden experimentarse efectos de dilución, que aunado a las fuerzas de fricción descritas anteriormente, modificarán las propiedades reológicas de la formulación aplicada y, por tanto, pueden modificar su retención en el tracto vaginal.

Se ha estimado que la velocidad de las fuerzas de fricción durante el sueño son menores a 0.1 s^{-1} y, durante el coito, ascienden a 100 s^{-1} . Por ello, resulta importante formular un producto que no cambie apreciablemente sus propiedades reológicas bajo la influencia de las fuerzas de fricción y por efecto de dilución de los fluidos vaginales. Esto se logra mediante una adecuada combinación de agentes gelificantes (celulosa y derivados, carbómeros, entre otros) los cuales son responsables de impartir, al producto final, las propiedades reológicas características de un gel, observando así en el producto, una elevada viscosidad que le permite permanecer en su sitio de aplicación el tiempo suficiente para ejercer su efecto protector.⁴⁷

4.2 Geles como alternativas anticonceptivas.

Los espermicidas tienen tanto ventajas como desventajas dentro del grupo de los métodos anticonceptivos modernos.³ Sin embargo, presentan algunas ventajas que los hacen más atractivos que otros métodos anticonceptivos pues son más fáciles de usar y se pueden adquirir sin prescripción médica, dado que no se han reportado efectos adversos sistémicos, por lo que se consideran seguros. Además, algunos de ellos ofrecen protección contra infecciones causadas por *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducrey*, e inclusive, pueden inactivar al virus causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).^{3,4,37,42,46}

4.2.1 Agentes espermicidas empleados en la elaboración de geles.

Los compuestos más utilizados en la elaboración de geles anticonceptivos se listan en el Cuadro 4.2.1.1

Cuadro 4.2.1.1 Agentes espermicidas más utilizados en la elaboración de geles anticonceptivos. ^{3,4,24,28,29,45}

| AGENTE | COMENTARIO |
|--|---|
| Nonoxynol-9 | Es el ingrediente activo más utilizado en la elaboración de geles, supositorios, óvulos, espumas, películas y como lubricante de preservativos |
| Derivados de acilcarnitina | Muestra muy buenas propiedades como espermicida y antimicrobiano |
| C31G | Análogo de zidovudina. Muestra muy buenas propiedades anti-VIH |
| Menfegol | Surfactante no iónico disruptor de membranas. Presenta propiedades muy similares a las del nonoxynol-9. |
| Octoxynol-9 | Pertenece a la misma familia del nonoxynol-9, pero es menos utilizado |
| Cloruro de benzalconio | Es utilizado en la elaboración de espermicidas vaginales |
| Sulfosuccinato sódico de dioctilo | Mismo uso que el cloruro de benzalconio |
| Complejos bis-ciclopentadienil de vanadio (IV) | Inmovilizan a los espermatozoides en 15 segundos aproximadamente sin afectar la integridad de la membrana de éstos, la viabilidad de las células vaginales o las células cervicales. Se encuentran aún en fase de investigación |

4.2.1.1 Características de los agentes espermicidas.

Debido al uso generalizado de varios compuestos como espermicidas (ver Cuadro 4.2.1.1), varios grupos de investigación^{24,28,29,46} han propuesto las características que tales agentes deben cumplir, las cuales son:

1. Deben ser seguros.
2. No deben distribuirse sistémicamente después de su aplicación tópica.
3. Deben ser baratos.
4. Obtenerse a partir de muy diversas fuentes.
5. Es deseable que presenten actividad antimicrobiana para prevenir enfermedades de transmisión sexual.
6. Inactivar los factores de patogenicidad de los microorganismos causales de las enfermedades de transmisión sexual.

4.2.1.2 Nonoxynol-9.

Es un compuesto perteneciente a la familia de los polioxietilén alquilfenoles.^{16,26} Sus propiedades fisicoquímicas se resumen en el Cuadro 4.2.1.3.1.

Cuadro 4.2.1.3.1
Propiedades fisicoquímicas del Nonoxynol-9.^{1,2}

| PROPIEDAD FISCOQUÍMICA | COMENTARIO |
|-------------------------|--|
| Nombre químico (IUPAC) | α -(4-Nonilfenil)- ω -hidroxipoli(oxi-1,2-etadienil); polietilenglicoles de mono(nonilfenil)éter |
| Método de preparación | Reacción de nonilfenol con óxido de etileno |
| Estado físico | Líquido |
| Apariencia | Líquido claro o color amarillo pálido |
| Nombres Comerciales | Nonoxynol-9; C-Film; Conco NI-90; Dowfax 9N9; Encare; Gynol II; Igepal CO-630; Intercept; Neutronyx 611; Semicid; Staycept; Tergitol TP-9 |
| Peso molecular promedio | 617 g/mol |
| Densidad | 1.06 g/mL |
| Punto de solidificación | 37 \pm 2 °F |
| Punto flash | 535 - 555 °F |
| Viscosidad | 175-250 cp |
| Solubilidad | Soluble en agua, etanol, etilénglicol, dicloruro de etileno, xileno y aceite de maíz |
| Bandas de infrarrojo | Exhibe máximos a 1117 cm ⁻¹ (fuerte); a 1512, 1582 y 1610 cm ⁻¹ (medio); a 2871, 2958 y 2956 cm ⁻¹ (fuerte, sin resolver); a 831 cm ⁻¹ (medio, ancho); y a 1250 cm ⁻¹ |

4.2.1.2.1 Mecanismo de acción.

Es un surfactante no iónico que ejerce efectos espermicida, antibacterial y antiviral.⁸ Fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica en 1980 para su uso como espermicida en geles anticonceptivos disponibles sin prescripción médica (o productos over-the-counter u OTC por sus siglas en inglés).¹¹ El término surfactante se utiliza más comúnmente en vez de la denominación más formal de agente de superficie activo. Se define a un surfactante como aquél que disminuye la tensión superficial del agua.^{19,38} Por tanto, rompe la continuidad de la membrana de los espermatozoides, microorganismos causales de enfermedades de transmisión sexual y del virus del SIDA mediante la disminución de la tensión superficial.^{4,24,43}

Lee y colaboradores^{8,9} han mostrado que su acción espermicida se incrementa cuando en la formulación se incorpora un agente quelante a concentraciones de 5000 μ g/mL (como EDTA) para que compleje al calcio presente en el semen (ver Cuadro 4.2.1.3.1.1) y disminuya así la movilidad de los espermatozoides así como su penetración a través de la mucosa cervical (ver Cuadros 4.2.1.3.1.2 y 4.2.1.3.1.3).

El proceso de fertilización consiste, esencialmente, de una reacción acrosomal y de la fusión óvulo-espermatozoide, dependiente de calcio extracelular. Se ha postulado que las modificaciones en el balance de calcio está regulado por canales de calcio y cambios en el pH intracelular, factores que regulan el estado de fosforilación de las proteínas funcionales en el axonema flagelar activado directamente por AMPc y una cinasa dependiente de AMPc.⁹

Cuadro 4.2.1.3.1.1
Composición del Semen Humano.⁸

| CONSTITUYENTE | CONCENTRACION (mg/dL) |
|------------------------|-----------------------|
| Sodio | 259 |
| Potasio | 172 |
| Calcio | 14 |
| Magnesio | 8 |
| Cloro | 371 |
| Fósforo inorgánico | 8 |
| Glicerilfosforilcolina | 182 |
| Proteína | 5500 |
| Glucosa | 10 |
| Fructosa | 550 |
| Acido láctico | 35 |
| Acido glutámico | 3 |
| Urea | 34 |

Cuadro 4.2.1.3.1.2
Comparación del efecto espermicida del EDTA y Nonoxynol-9 en la movilidad de espermatozoides humanos.⁸

| CONCENTRACION (µg/mL) | ACTIVIDAD ESPERMICIDA (% ± DE) | |
|-----------------------|--------------------------------|-------------|
| | EDTA | Nonoxynol-9 |
| 50 | | 9.8 (3.4) |
| 100 | | 21.6 (4.5) |
| 200 | 11.2 (3.4) | 100 |
| 1000 | 23.6 (6.5) | 100 |
| 3200 | 90.2 (6.3) | 100 |
| 5000 | 100 | 100 |

Cuadro 4.2.1.3.1.3

Comparación de la distancia migrada por los espermatozoides a través del moco cervical a partir del semen eyaculado total.⁸

| CONCENTRACION ($\mu\text{g/mL}$) | DISTANCIA MIGRADA (mm \pm DE) | | Nonoxynol-9 |
|------------------------------------|---------------------------------|--|-------------|
| | EDTA | | |
| 100 | 23.2 (6.2) | | 67.3 (11.4) |
| 250 | 21.4 (8.1) | | 64.0 (14.5) |
| 500 | 13.6 (3.4) | | 58.2 (12.3) |
| 750 | 11.6 (4.5) | | 52.7 (13.2) |
| 1000 | 4.1 (2.4) | | 44.5 (9.4) |

También se ha estudiado el efecto sinergista entre EDTA y surfactante no iónico. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 4.2.1.3.1.4.

Cuadro 4.2.1.3.1.4

Efecto Sinergista del EDTA en la Actividad Espermicida del Tergitol TP-9 y en la movilidad de espermatozoides humanos.^{1,5}

| CONCENTRACION DE SURFACTANTE NO IÓNICO ($\mu\text{g/mL}$) | ACTIVIDAD ESPERMICIDA (% \pm DE) | |
|--|------------------------------------|-------------|
| | 0 % EDTA | 0.1 % EDTA |
| 50 | 9.8 (3.4) | 21.4 (7.3) |
| 75 | 13.3 (3.1) | 52.4 (10.2) |
| 100 | 21.6 (4.5) | 99.3 (0.9) |
| 125 | 28.4 (12.1) | 100 (0.0) |
| 150 | 52.1 (13.3) | 100 (0.0) |
| 175 | 99.1 (0.3) | 100 (0.0) |

4.2.1.2.2 Metabolismo y efectos adversos.

Aunque diversas publicaciones^{4,24,32,34} indican que el Igepal CO-630 no se metaboliza puesto que se excreta en orina y heces sin metabolizar,^{1,2} Hosea⁴⁴ ha indicado que los detergentes no iónicos (como el Tritón X-100, Emulgen 911 y Nonoxynol-9) son oxidados por el sistema hepático microsomal citocromo P450 dando metabolitos polares como productos de oxidación, aunque su estructura aún no ha sido determinada.

Debido a que el Tergitol TP-9 es una mezcla de oligómeros,^{1,2,12,24} diversas investigaciones han mostrado preocupación sobre la efectividad del surfactante como espermicida y antimicrobiano,^{24,28} a no ser que en la formulación se incorpore un agente quelante, en donde se ha mostrado que así aumenta su capacidad espermicida y antimicrobiana, e inclusive, disminuye la concentración mínima efectiva -CME- (en presencia de EDTA, se ha estimado que la CME requerida de Nonoxynol-9 es 125-175 µg/mL).^{8,9}

Como efectos adversos al empleo de nonoxynol-9, se han reportado irritación vaginal, posibles efectos tóxicos en las membranas vaginales y cervicales,^{3,4} incrementa el riesgo de desarrollar infecciones en el tracto urinario, candidiasis vulvovaginal, úlceras genitales,²⁴ hemólisis de los eritrocitos³³ y exfoliación del epitelio rectal.⁴¹ Sin embargo, el punto de vista de la FDA y del Centro de Control de Enfermedades Infecciosas de Atlanta, establece que el Nonoxynol-9 es seguro y eficaz como espermicida.⁴⁰

4.2.1.2.3 Otros factores que favorecen la acción de Igepal CO-630 como espermicida.

El proceso de liberación de un principio activo contenido en una forma farmacéutica hacia su sitio de acción involucra varios fenómenos: (a) interacción del vehículo con un ambiente fisiológico específico; (b) la liberación del principio activo; (c) el transporte de éste hacia su sitio blanco; y (d) la bioactividad del fármaco sobre células blanco, tejidos, órganos u organismos.³⁴

Ha podido demostrarse mediante estudios recientes la influencia del pH sobre la efectividad de los surfactantes no iónicos como espermicidas, y ha podido establecerse que su actividad es óptima a pH 5.9. Como se sabe, el pH vaginal es de aproximadamente 5.5, debido a la acción de la flora habitual vaginal y cambios en el pH vaginal, sea por acción de un gel aplicado tópicamente como por otros factores, pueden favorecer el desarrollo de infecciones vaginales.^{28,32} Sin embargo, otras investigaciones han podido establecer que a valores de pH ligeramente ácidos aumenta la adhesividad de los geles a la mucosa vaginal⁴⁹ y que éste permite, además, inmovilizar y matar a los espermatozoides.⁵¹

4.3 Polímeros empleados en la elaboración de geles.

Para formar el arreglo molecular característico de los geles (ver Figura 4.1.2.1) se emplea una amplia variedad de polímeros, entre los que se encuentran las gomas naturales, derivados de la celulosa y carbómeros.⁶⁴ Debido a que en las industrias cosmética y farmacéutica se ha extendido el uso de derivados de la celulosa y carbómeros como polímeros, únicamente se considerarán a estas dos familias.

4.3.1 Derivados de la celulosa.

Los derivados de la celulosa, un polímero estructural que se encuentra en las plantas, se emplean en la fabricación de geles y jaleas y entre éstos destacan la metilcelulosa, la carboximetilcelulosa sódica, la hidroxietilcelulosa, la hidroxipropilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa.⁶⁴ Se sabe que a mayor peso molecular promedio del polímero, su grado de sustitución y la naturaleza de los sustituyentes, mejorarán sus propiedades reológicas (viscosidad, por ejemplo).³⁵

Debido a que la mayoría de los polímeros utilizados como sistemas portadores de principios activos se emplean en medios acuosos, la interacción del agua con tales moléculas poliméricas y la distribución de estos sistemas poliméricos es crítica para propiedades tales como la reología, la adhesión, las transformaciones sol-gel y la liberación de los principios activos embebidos en la matriz. El derivado de celulosa que más atención ha recibido es la hidroxipropilmetilcelulosa pues su uso en la elaboración de hidrogeles está muy difundido dado que presenta diversas ventajas, entre las que se encuentran: (a) resistente a cambios de pH; (b) los principios activos embebidos en matrices formadas con hidroxipropilmetilcelulosa muestran un buen perfil de liberación; y (c) proporciona a los geles una elevada viscosidad.^{8,9,24,34,36,39}

4.3.1.1 Hidroxipropilmetilcelulosa.

La hidroxipropilmetilcelulosa es un derivado parcialmente *O*-metilado y *O*-(2-hidroxipropilado) de la celulosa cuya estructura se muestra en la Figura 4.3.1.1.1. En la Figura 4.3.1.1.2 se muestra una magnificación al microscopio.

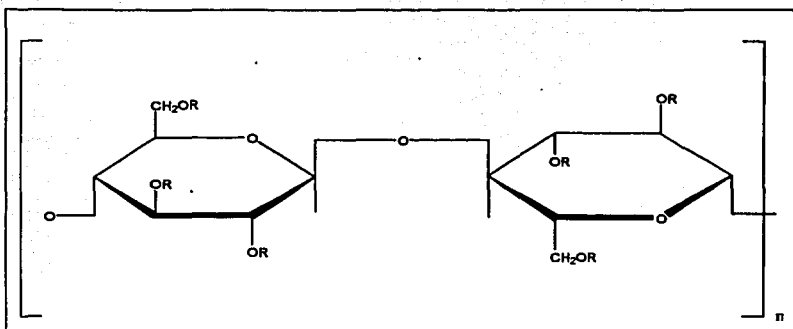


Figura 4.3.1.1.1 Fórmula estructural de la Hidroxipropilmetilcelulosa.²³
R = -H, -CH₃, o -CH₃CH(OH)CH₂

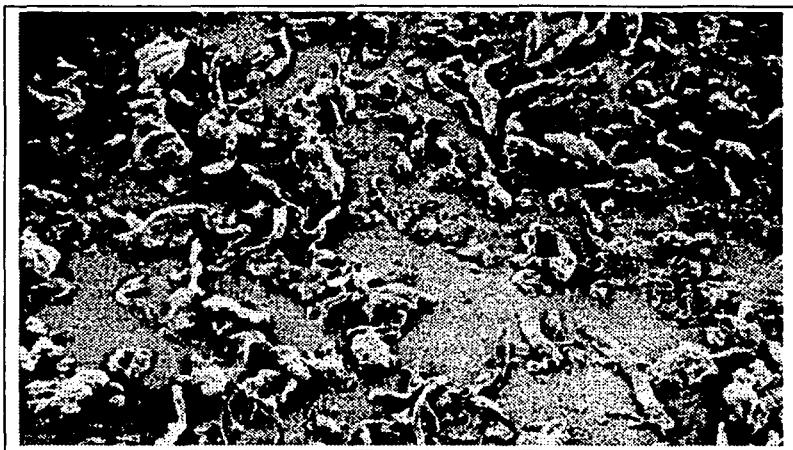


Figura 4.3.1.1.2 Magnificación al microscopio de una muestra de Hidroxipropilmetilcelulosa.
Aumento: 60x

Tiene un peso molecular aproximado de 10'000 – 1'500'000 g/mol. Se utiliza como agente formador de películas, estabilizante, suspensor, aglutinante de tabletas, agente y viscosante. Es un polvo fibroso o granular inodoro e insaboro de color blanco. Es soluble en agua

fría, prácticamente insoluble en cloroformo, etanol al 95% y éter. Debido a que es un compuesto no iónico, no forma compuestos de coordinación insolubles con sales metálicas y ligantes orgánicos.²³

4.3.2 Carbómeros.

Los carbómeros son un grupo de polímeros acrílicos unidos con un polialqueniil éter comercializados bajo la marca Carbopol.⁶⁴ El Carbopol 934P es el más empleado en la industria farmacéutica como bioadhesivo y agente gelificante, en donde es sujeto a diversos estudios *in vitro* de bio y mucoadhesión.^{27,36,52}

Tiene un peso molecular promedio de 3'000'000 y se emplea como agente emulsificante, suspensor, aglutinante de tabletas y para incrementar la viscosidad. Es soluble en agua, etanol al 95% y glicerina. Es incompatible con fenol, polímeros catiónicos, ácidos fuertes, elevadas concentraciones de electrolitos y trazas de hierro.²³ En la Figura 4.3.2.1 se muestra una magnificación al microscopio de una muestra de Carbopol 934P.



Figura 4.3.2.1
Vista al microscopio de Carbopol 934P
Aumento: 2000x

4.4 Conservadores.

Como ya se ha mencionado anteriormente, los geles elaborados con hidroxipropilmetilcelulosa son susceptibles de ataque microbiano. Los conservadores más utilizados tanto en las industrias cosmética y farmacéutica son los parabenos, en particular, el butilparabeno.

4.4.1 Butilparabeno.

Las propiedades fisicoquímicas de este compuesto se muestran en el Cuadro 4.4.1.1 y en la Figura 4.4.1.1 se muestra su estructura química.

Cuadro 4.4.1.1
Propiedades fisicoquímicas del butilparabeno

| PROPIEDAD FISICOQUÍMICA | COMENTARIO |
|-------------------------|---|
| Nombre químico | 4-Hidroxibenzoato de butilo |
| Fórmula molecular | $C_{11}H_{14}O_3$ |
| Peso molecular | 194.23 g/mol |
| Estado físico | Sólido. Polvo blanco cristalino |
| Solubilidad | Muy soluble en acetona. Escasamente soluble en glicerina, aceite mineral y agua |
| Punto de fusión | 68 - 72 °C |

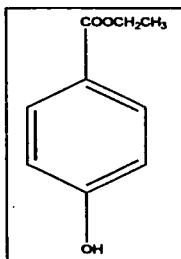


Figura 4.4.1.1
Estructura química del butilparabeno

Las concentraciones mínimas inhibitorias del butilparabeno en disolución acuosa se muestran en el Cuadro 4.4.1.2

Cuadro 4.4.1.2
Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del butilparabeno en disolución acuosa.

| MICROORGANISMO | CMI (µg/mL) |
|--|-------------|
| <i>Aerobacter aerogenes</i> ATCC 8308 | 400 |
| <i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642 | 125 |
| <i>Aspergillus niger</i> ATCC 10254 | 200 |
| <i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycooides</i> ATCC 6462 | 63 |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 250 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 125 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355 | 250 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 | 5000 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637 | 5000 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 8308 | 250 |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 9480 | 70 |
| <i>Penicillium digitatum</i> ATCC 10030 | 32 |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 | 125 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 | > 1000 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | > 1000 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 500 |
| <i>Rhizopus nigricans</i> ATCC 6227 | 63 |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 | 35 |
| <i>Salmonella typhosa</i> ATCC 6539 | 500 |
| <i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100 | 500 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P | 125 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 | 250 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | 35 |

5. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ULTRAVIOLETA.

5.1 Generalidades sobre la espectrofotometría.

Los métodos fotométricos son quizá los métodos espectroscópicos más utilizados en el análisis cualitativo y cuantitativo. Puesto que se mide la cantidad de luz visible u otro tipo de energía radiante absorbida por una disolución, la cual depende de la concentración de la sustancia absorbente y es así como se puede determinar cuantitativamente la cantidad presente de la o las sustancias de interés.

Los métodos colorimétricos se refieren a la determinación de una sustancia a partir de su capacidad de absorber luz visible. Estos métodos visuales se basan en la comparación de una disolución colorida de concentración desconocida con una serie de disoluciones estándar cuya concentración se conoce. En los métodos espectrofotométricos, la razón de las intensidades del haz de luz incidente y del haz de luz transmitido se mide a una longitud de onda específica mediante un detector adecuado, por ejemplo, una fotocelda.

El espectro de absorción proporciona también una huella digital para identificar, de modo cualitativo, a la sustancia absorbente.^{65,66}

5.2 Aspectos moleculares de la absorción de la radiación: espectros electrónicos.

La absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible, depende de la estructura electrónica de la molécula. La energía se absorbe en cuantos (unidades o paquetes de energía), elevando a los electrones de valencia de un estado de menor energía (basal) a un estado de mayor energía (excitado). Debido a que, por razones mecano-cuánticas, sólo ciertos estados energéticos son posibles, la diferencia de energía entre un estado basal y un estado excitado deben igualar la energía adicionado por el cuanto. En muchas estructuras electrónicas, la absorción no ocurre en toda la región del ultravioleta, por lo que en la práctica, la espectrofotometría de ultravioleta se utiliza para analizar sistemas conjugados y todo aquel sistema que absorba en la región ultravioleta.

Cuando se hace pasar un haz de luz a través de una sustancia absorbente, la intensidad de la radiación incidente (I_0) será mayor que la de la radiación emergente (I). Las absorciones de las radiaciones visible, ultravioleta y de rayos X (ver Cuadro 5.2.1) resultan generalmente en transiciones electrónicas, acompañadas de cambios vibracionales y rotacionales. En general, los átomos excitados retornarán a su estado basal muy rápidamente, cediendo la energía ganada en forma de calor o mediante la emisión de radiación electromagnética.⁶⁵

Cuadro 5.2.1
Absorción de la luz visible y color

| LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN (nm) | COLOR ABSORBIDO | COLOR OBSERVADO |
|---|------------------|------------------|
| 380 - 420 | Violeta | Amarillo - verde |
| 420 - 440 | Azul - violeta | Amarillo |
| 440 - 470 | Azul | Anaranjado |
| 470 - 500 | Verde - azul | Rojo |
| 500 - 520 | Verde | Púrpura |
| 520 - 550 | Amarillo - verde | Violeta |
| 550 - 580 | Amarillo | Azul - violeta |
| 580 - 620 | Anaranjado | Azul |
| 620 - 680 | Rojo | Verde - azul |
| 680 - 780 | Púrpura | Verde |

5.3 Nomenclatura.

Desafortunadamente, los términos empleados en espectrofotometría y espectroscopia son confusos. La Comisión de Nomenclatura, una división de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, ha hecho algunas recomendaciones con el fin de estandarizar los términos utilizados en espectrofotometría. Lo anterior se muestra en el Cuadro 5.3.1

Cuadro 5.3.1
Nomenclatura de los términos utilizados en espectrofotometría

| NOMBRE | SÍMBOLO | DEFINICIÓN | NOMBRE NO RECOMENDADO |
|----------------------------|------------------------|--|---|
| Absorbancia | A | $-\log T$ | Densidad óptica (D.O.) |
| Absortividad | a | $= A/bc$ | Índice de absorbancia |
| Longitud del paso óptico | b | Longitud de la celda, en cm | l o d |
| Absortividad molar | ϵ | $= A/bc^2$ | Índice de absorción molar, coeficiente de extinción molar, coeficiente de absorción molar |
| Transmitancia | T | I/I_0 | Transmisión |
| Unidad de longitud de onda | nm | 1×10^{-9} metros | m μ (milimicrón) |
| Máximo de absorción | λ_{max} | Longitud de onda a la cual ocurre un máximo de absorción | |

¹ La concentración se expresa en gramos por litro.

[±] La concentración se expresa en moles por litro.

5.4 Efecto de la estructura en la absorción: transiciones electrónicas.

Las transiciones electrónicas en moléculas orgánicas se caracterizan por la promoción de los electrones de enlace de un estado basal a un estado excitado. Si la estructura molecular es un factor determinante para determinar los estados electrónicos de los estados basales y excitados, entonces la energía requerida para las transiciones $n \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \sigma^*$ variará de molécula a molécula, dependiendo de las variaciones estructurales y ambientales. Los tipos de transiciones electrónicas más comunes se ilustran en el Cuadro 5.4.1.

Cuadro 5.4.1
Niveles electrónicos de energía y transiciones.

| TRANSICIÓN | REGIÓN DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO | EJEMPLO |
|-------------------------------|--|------------------------------|
| $\sigma \rightarrow \sigma^*$ | Ultravioleta de vacío | CH_4 a 125 nm |
| $n \rightarrow \sigma^*$ | Ultravioleta lejano, en ocasiones Ultravioleta cercano | Acetona a 190 nm |
| $\pi \rightarrow \pi^*$ | Ultravioleta | Aldehídos saturados a 180 nm |
| $n \rightarrow \pi^*$ | Ultravioleta cercano y visible | Nitrobutano a 665 nm |

5.5 Aspectos cuantitativos de la espectrofotometría de ultravioleta:

Ley de Lambert-Beer.

Bouguer, y posteriormente Lambert, observaron que la fracción de energía, o la intensidad de la radiación absorbida por un material depende de la naturaleza de la sustancia absorbente y de la frecuencia de la radiación incidente. A una concentración dada de la sustancia absorbente, se observa una relación exponencial entre la intensidad transmitida y el espesor del material. Esto se conoce generalmente como ley de Lambert. Beer demostró que, a un determinado espesor del material absorbente, el coeficiente de absorción introducido por Lambert era directamente proporcional a la concentración de la sustancia absorbente en disolución. Si se combinan estos resultados, se obtiene una relación conocida como la ley de Beer. Esta ley establece que la cantidad de radiación absorbida o transmitida por una disolución o medio es una función exponencial de la concentración de la sustancia absorbente presente y de la longitud del paso óptico a través de la muestra.

5.5.1 Deducción de la expresión matemática de la ley de Lambert-Beer.

Para una capa de material de espesor infinitesimal, db , la disminución de la potencia radiante ($-dP$) está dada por:

$$-\frac{dP}{P} = kcdb$$

donde k es una constante de proporcionalidad.

Integrando considerando la longitud total de la celda, b , se tiene:

$$\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = -k \int_0^b cdb$$

Lo que resulta en:

$$\ln \frac{P}{P_0} = -kbc = 2.303 \log \frac{P}{P_0}$$

Considerando las definiciones que se muestran en el Cuadro 5.3.1, resulta:

$$-\log \frac{P}{P_0} = -\log T = A = \epsilon bc$$

El significado de cada variable de la ley de Lambert - Beer, así como sus unidades respectivas, se muestra en el Cuadro 5.5.1.1.

Cuadro 5.5.1.1
Variables empleadas en la Ley de Lambert - Beer

| VARIABLE | SÍMBOLO | UNIDADES |
|--|------------|--------------|
| Absorbancia | A | Adimensional |
| Absortividad molar | ϵ | L/mol cm |
| Longitud de la celda | B | Cm |
| Concentración de la sustancia absorbente | C | mol/L |

5.5.2 Desviaciones de la Ley de Lambert-Beer.

Esta ley muestra, cuando se grafica la absorbancia en función de la concentración, un comportamiento lineal que intersecta el origen y que muestra una pendiente igual a ϵb . Sin embargo, es posible observar desviaciones en la proporcionalidad directa entre la absorbancia y la concentración de la sustancia absorbente. Éstas, pueden deberse tanto a factores instrumentales como a factores químicos.

5.5.2.1 Factores instrumentales responsables de desviaciones de la Ley de Lambert-Beer.

Un desempeño insatisfactorio del equipo puede presentarse por factores tales como:

1. Variaciones de voltaje.
2. Inestabilidad en la fuente de luz.
3. Respuestas no lineares de los sistemas de detección - amplificación.
4. Radiación policromática.
5. Apertura del slit.

5.5.2.2 Factores químicos responsables de desviaciones de la Ley de Lambert-Beer.

Las desviaciones aparentes de esta ley se deben con frecuencia a efectos químicos tales como: a) disociación, b) asociación, c) formación de complejos, d) polimerización y e) solvólisis.

Ocasionalmente, se deben considerar otros efectos tales como:

1. Disolvente.
2. Temperatura.
3. Efectos fotónicos.

5.5.2.2.1 Factores involucrados en la formación de compuestos absorbentes.

Entre los factores que más influencia tienen sobre la formación y estabilidad de las especies absorbentes, deben mencionarse a los siguientes:

1. pH.
2. Concentración de reactivos.
3. Tiempo.
4. Temperatura.
5. Orden de adición.
6. Estabilidad *per se* de la especie formada.
7. Enmascaramiento.
8. Disolventes orgánicos.
9. Concentración de sales.

5.5.3 Aplicaciones de la Ley de Lambert-Beer.

Esta ley tiene una gran variedad de aplicaciones. Entre las más frecuentes, pueden citarse las siguientes:

1. Análisis de mezclas.
2. Determinación de la estequiometría de formación de complejos.
3. Estudio del equilibrio químico.
4. Determinación de pesos moleculares.
5. Estudio de las velocidades de reacción.
6. Purificación y análisis de trazas.

5.6 Aspectos instrumentales de la espectrofotometría de ultravioleta.

El equipo que se emplea para medir la absorción de luz se denomina espectrofotómetro. La luz de una fuente continua pasa a través de un monocromador, que selecciona una banda estrecha de longitudes de onda del haz incidente. Esta luz monocromática atraviesa una muestra de espesor b , y se mide la potencia radiante de la luz que sale.⁶⁶

5.6.1 Espectrofotómetros de doble haz.

En un espectrofotómetro de haz simple, cuyos componentes se ilustran en la Figura 5.6.1.1, debe medirse primero el valor de P_0 con una muestra de referencia por separado. Este

procedimiento no es muy práctico, debido a que deben colocarse dos muestras diferentes en el haz de manera alternada. Esto causa inexactitud, porque tanto la intensidad de la fuente como la respuesta del detector fluctúan en el transcurso del tiempo. Si hay un cambio en alguna de ellas entre la medición de la disolución de referencia y de la muestra, la absorbancia aparente tendrá error. En cambio, en un espectrofotómetro de doble haz, que se esquematiza mediante un diagrama de bloques en la Figura 5.6.1.2, la luz pasa alternadamente por las celdas de muestra y de referencia. Esto se hace mediante un motor que hace girar un espejo dentro y fuera de la trayectoria de la luz. Cuando el espejo obturador intermitente (entrecortador) no desvía el haz, la luz pasa a través de la muestra, y el detector mide la potencia radiante P_s . Cuando dicho espejo desvía el haz a través de la celda de referencia, el detector mide P_r . De esta forma, la luz es desviada varias veces por segundo, y el circuito compara automáticamente P_r y P_s para obtener la absorbancia. Este procedimiento proporciona una corrección automática de fluctuaciones en la intensidad de la fuente o en la respuesta del detector, dado que la potencia que sale de las dos muestras se compara con mucha frecuencia.

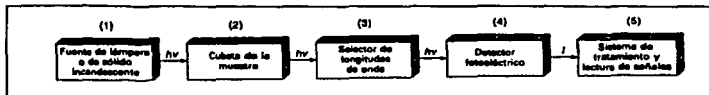


Figura 5.6.1.1 Componentes de un espectrofotómetro de haz simple.⁶⁷

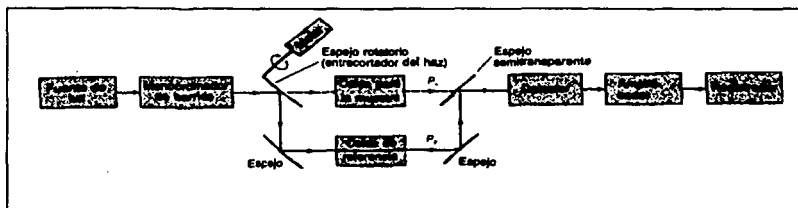


Figura 5.6.1.2 Componentes de un espectrofotómetro de doble haz.⁶⁸

5.7 Métodos analíticos para la cuantificación de surfactantes no iónicos.

La mayoría de publicaciones recientes,^{2,11,12,13,14,15} se ha centrado en la cuantificación de Nonoxynol-9 únicamente como materia prima. En tales estudios, todos coinciden en emplear a la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE por sus siglas en español, o HPLC por High Performance Liquid Chromatography), varios sistemas de fase móvil consistentes en metanol:agua (80:20 vol/vol),² tetrahidrofurano:acetonitrilo (98:2 vol/vol),¹¹ tetrahidrofurano:acetonitrilo (95:5 vol/vol),¹² acetato de etilo:etanol:hidróxido de amonio (65:22.5:12.5 vol/vol).^{13,14,15}

5.7.1 Cuantificación del Nonoxynol-9 mediante espectrofotometría de ultravioleta.

Lo anterior nos lleva a desarrollar un método analítico adecuado para la cuantificación del principio activo contenido en el gel. Dado que la matriz es muy compleja, una cuantificación mediante HPLC implicaría mucho tiempo, el cual, para controles en proceso de fabricación del producto, no siempre es factible realizar un análisis tan minucioso como lo es HPLC. Es por ello que se propone un método analítico más rápido, pero igualmente selectivo y sensible para la cuantificación del surfactante no iónico presente en el producto.

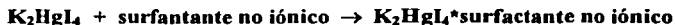
En la literatura se han descrito varias investigaciones previas para determinar surfactantes no iónicos del tipo polioxietylén (como el Tergitol TP-9). Stevenson^{17,53} describió un método para determinar Lissapol N en disolución acuosa mediante la formación de un complejo con ácido fosfomolibdico, y posteriormente, determinaba el molibdeno mediante métodos colorimétricos. Van der Hoeve¹⁸ estableció que los compuestos con uniones de tipo polioxietylén condensan para formar complejos insolubles con tiocianato de amonio y cobalto, y después, el complejo formado se extraía con cloroformo, midiéndose la absorbancia de la disolución a una longitud de onda de 318 nm. Se encontró que muchos de estos complejos insolubles eran insolubles en cloroformo, pero que podrían extraerse con benceno. Éste se evaporaba, y el complejo se disociaba con agua; así, el cobalto en la disolución acuosa se cuantificaba mediante la reacción con el ligando sal de nitroso-R, a una longitud de onda de 500 nm.^{17,18,21}

Kho y Stolten⁵⁵ desarrollaron un método espectrofotométrico que considera la complejidad de la matriz (fluidos biológicos, soluciones de limpieza, entre otras). Éste permite

determinar la concentración de surfactantes no iónicos de estructura química conocida. Aunque la sensibilidad del método depende del compuesto que se ensaya, el límite de cuantificación se reporta entre 1 a 10 partes por millón (ppm).

5.7.1.1 Fundamentos del método espectrofotométrico de Kho y Stolten.

El reactivo no iónico^{53,54,55} (yoduro de mercurio y potasio, K_2HgI_4) forma un complejo con surfactantes no iónicos en disolución acuosa. La reacción simplificada es la siguiente:



El tiempo de reacción, que depende del compuesto en estudio, varía de 15 minutos a varias horas. Es necesario determinar el tiempo de reacción adecuado para cada caso. Entre las ventajas de este método, podemos citar las siguientes:

1. Pueden determinarse la concentración de agentes de superficie activos contenidos en matrices complejas.
2. No hay interferencia por la presencia de compuestos no aniónicos (como surfactantes aniónicos tales como palmitato de sodio, diestearato de aluminio, ácido cólico, entre otros).¹⁷
3. El análisis puede efectuarse a temperatura ambiente y en un intervalo de pH amplio.
4. No hay interferencia por presencia de electrolitos.
5. Es selectivo, sensible y económico.

6. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

6.1 Panorámica general de la validación de métodos analíticos.

La industria farmacéutica está especialmente interesada en la validación de métodos analíticos debido al gran incremento de nuevos productos que tienen que ver con la salud y que requieren de métodos de análisis apropiados.

Una parte integral del desarrollo de un método analítico es la validación del mismo, es decir, el método debe probarse para determinar su efectividad. La validación generalmente incluye una evaluación de la precisión, linealidad, exactitud y especificidad, y proporciona una medida del comportamiento del método.

La validación del método puede definirse como el proceso por el cual queda establecido, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas. La capacidad se expresa, en este caso, en términos de parámetros analíticos.

El proceso de validación de un método en particular está basado en principios científicos adecuados y ha sido optimizado para propósitos básicos de medición.⁵

6.1.1 Procedimientos analíticos que deben ser validados.

Los procedimientos analíticos que deben ser validados son los siguientes.⁶

1. Pruebas de identificación.
2. Pruebas cuantitativas para el contenido de impurezas.
3. Pruebas límites para el control de impurezas.
4. Pruebas cuantitativas para la cuantificación del principio activo o de algún otro componente seleccionado de la formulación.

El objetivo del procedimiento analítico debe entenderse claramente debido a que éste gobernará las características de validación que deben ser evaluadas. Los parámetros de validación típicos que deben evaluarse son los siguientes:^{5,6,7,10}

1. Exactitud.
2. Precisión (repetibilidad y reproducibilidad).
3. Especificidad.
4. Límite de detección.
5. Límite de cuantificación.
6. Linearidad.
7. Rango.

6.1.2 Casos en los que debe revalidarse un método analítico.

En general, la revalidación es necesaria en casos como los siguientes:⁶

1. Modificaciones en la elaboración de las materias primas y síntesis de los principios activos.
2. Cambios en la formulación del producto terminado.
3. Cambios de marca de reactivos y/o de proveedor.
4. Modificaciones al procedimiento analítico.

Los parámetros que deben ser evaluados en la revalidación del método analítico son la reproducibilidad y la repetibilidad.

6.2 Parámetros que debe cumplir un procedimiento analítico de tipo espectrofotométrico.

Los parámetros que debe cumplir un procedimiento analítico de tipo espectrofotométrico son los siguientes:^{6,7}

1. Exactitud.
2. Precisión (repetibilidad y reproducibilidad).

3. Especificidad.
4. Límite de detección.
5. Límite de cuantificación.
6. Límite de detección.
7. Linealidad.
8. Rango.

6.3 Definiciones.

Las definiciones de los parámetros requeridos para la validación de un método analítico son las siguientes:^{5,6,7}

- **Procedimiento analítico:** Se refiere al procedimiento por medio del cual se realiza el análisis. De describirse en forma detallada los pasos necesarios para llevar a cabo el análisis. Debe incluir a la muestra, el estándar de referencia, los reactivos, preparaciones, aparatos, generación de la curva de calibración, fórmulas empleadas para los cálculos, etc.
- **Especificidad:** Es la habilidad para detectar, de manera inequívoca, la presencia del analito y diferenciarlo de otros componentes de la formulación, o bien, impurezas, productos de degradación, etc.
- **Exactitud:** Expresa la concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el por ciento de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades conocidas de la sustancia (analito).
- **Precisión:** Expresa la concordancia entre una serie de determinaciones obtenidas mediante muestreo múltiple bajo las condiciones de análisis descritas en el procedimiento analítico. La precisión de un método analítico se expresa en términos de varianza, desviación estándar o coeficiente de variación de una serie de determinaciones.

- **Límite de detección:** Es la mínima cantidad de analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificable bajo las condiciones de análisis.
- **Límite de cuantificación:** Es la mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser determinada cuantitativamente con una precisión y exactitud adecuadas.
- **Linealidad:** Es la habilidad del método analítico para obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la cantidad de analito en la muestra.
- **Rango:** Es el intervalo entre los límites superiores e inferiores de concentración en donde se ha demostrado que el método analítico es preciso, exacto y lineal.

FUNDAMENTACIÓN.

Las políticas vigentes en materia de salud sexual y reproductiva en México, sumado a una demanda insatisfecha de métodos anticonceptivos disponibles, muestran que es necesario proporcionar alternativas anticonceptivas eficaces y seguras a la población que las demanda.

Dentro del quehacer profesional del Químico Farmacéutico Biólogo, el plantear soluciones a esta problemática resulta crucial. Ello involucra conocer las propiedades fisicoquímicas, organolépticas, biológicas y toxicológicas del activo y las materias primas que compondrán la forma farmacéutica, así como de los requerimientos legales tanto nacionales como internacionales, para desarrollar una formulación que presente un óptimo desempeño durante las etapas de formulación así como después de ser comercializada.

Aunado a lo anterior, se suma el hecho de que toda formulación de tipo farmacéutico, contiene un principio activo, el cual debe ser cuantificado de manera precisa. Si se denota que en la literatura especializada para tal fin, sean la Farmacopea Nacional, la Británica, la Norteamericana y las diversas publicaciones internacionales, entre otras, no siempre se cuenta con métodos analíticos desarrollados para un determinado activo en particular y, es así, como surge otra etapa vital en el campo profesional de casi todo profesional vinculado a la Farmacia, que es el desarrollo y validación de métodos analíticos que permitan, por un lado, cuantificar el principio activo de interés, y por otro, demostrar que el método analítico desarrollado permite obtener resultados confiables bajo las condiciones de operación establecidas.

Conjuntando ambos rubros, es posible desarrollar formas farmacéuticas que cumplan con los parámetros de calidad especificados para tal fin y que, además, sean una alternativa a las demandas de la sociedad. Adicionalmente, el desarrollo y validación de métodos analíticos permitirá establecer técnicas analíticas confiables para cuantificar principios activos cuya metodología de análisis aún no esté descrita en la literatura.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las encuestas realizadas por el Consejo Nacional de Población en materia de uso, conocimiento y demanda de métodos anticonceptivos, muestran que a pesar de un incremento en el uso de éstos, aún persiste una demanda insatisfecha por métodos anticonceptivos seguros, eficaces y sencillos de utilizar.

En el mercado mexicano se encuentran disponibles varias formulaciones que son anticonceptivas. Ninguna de ellas utiliza nonoxynol-9 como principio activo, a pesar de que varias investigaciones han demostrado que es un espermicida seguro y eficaz, que presenta una acción bactericida y antimicrobiana contra *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardenerella vaginalis*, *Micoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum* e, inclusive, protección contra el virus causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. Otras investigaciones han mostrado que el uso de un agente quelante como el EDTA aumenta su efectividad como espermicida.

Por tal motivo, se propone hacer uso del diseño de experimentos tipo factorial 2^k para obtener una formulación en gel que, además de presentar propiedades anticonceptivas, presente propiedades lubricantes, cumpliendo para ello con los parámetros de desempeño especificados para una formulación de este tipo y que, por ende, sea una alternativa más en materia de formulaciones anticonceptivas disponibles actualmente en nuestro país.

En lo que respecta al principio activo, se sabe que no hay un método analítico desarrollado para cuantificarlo en formulaciones anticonceptivas. Debido a la complejidad de la matriz, por lo que es de interés el desarrollo de un método analítico confiable, específico, sensible y económico que permita su cuantificación tanto en controles en proceso de fabricación como en producto terminado.

OBJETIVOS.

- **Desarrollar una formulación anticonceptiva y lubricante en gel empleando para ello el diseño de experimentos tipo factorial 2^k .**
- **Evaluar la apariencia, pH, viscosidad y tensoactividad (como indicadores de desempeño idóneos para su uso) de la formulación desarrollada.**
- **Desarrollar y validar un método analítico de tipo espectrofotométrico para la cuantificación del activo.**
- **Realizar pruebas de ciclado por temperatura como indicadores de estabilidad del gel desarrollado.**

HIPÓTESIS.

Si mediante el diseño de experimentos es posible obtener una formulación con una propiedad anticonceptiva y lubricante, además de desarrollar y validar un método analítico de tipo espectrofotométrico para la cuantificación del activo, se obtendrá con todo ello, la información imprescindible para el diseño, la optimización y la posible comercialización de la formulación desarrollada para tal fin.

MATERIALES Y MÉTODOS

| ESTUDIO DE DEGRADACIÓN DEL NONOXYNOL-9 | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|---|---|---|-------------------------------------|-------------------------------|
| | | | Pco: TDF-001 | Página 1 de 2 |
| Escrita por: Fermín Alejandro Tenorio Lopez. | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

1.- ALCANCE:

Este Procedimiento Estándar de Operación será de observancia obligatoria en las instalaciones en donde se elabore el estudio respectivo y de conocimiento de todo el personal involucrado.

2.- MATERIAL Y EQUIPO:

- 3 frascos viales color ámbar.
- 3 pipetas graduadas de 5 mL.
- Disolución de ácido sulfúrico 7 N.
- Disolución de hidróxido de sodio 7 N.
- Disolución de peróxido de hidrógeno al 30%.
- Metanol (grado R.A.).
- Cloroformo (grado R.A.).
- Cromatoplasmas analíticas recubiertas con sílica gel GF-253 sin revelador.
- 1 lámpara de ultravioleta de longitud de onda corta y larga.

3.- SEGURIDAD:

El personal involucrado en la realización y control de los estudios debe portar bata blanca, limpia, en buen estado, cerrada (abotonada), cubrebocas y guantes de cirujano en buen estado. No debe portar ningún tipo de joyería o maquillaje. El personal que opere los equipos requeridos en este proceso, deberá observar cuidadosamente las instrucciones e indicaciones de seguridad del equipo.

| ESTUDIO DE DEGRADACIÓN DEL NONOXYNOL-9 | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|--|---|---|-------------------------------------|------------------------|
| | | | Pro: TDF-001 | Página 2 de 2 |
| Escrita por: Fertijá Alejandro Tenorio López. | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: 2002 | Próxima Revisión: 2003 |

4.- PROCEDIMIENTO:

- (a) Etiquetar 3 frascos viales como según se indica:
 - 1) Medio ácido.
 - 2) Medio alcalino.
 - 3) Medio oxidante.
- (b) Pesar en cada frasco vial 20 mg de nonoxynol-9.
- (c) Agregar a cada frasco vial 2 mL de la disolución respectiva.
- (d) Almacenar durante 24 horas a temperatura ambiente.
- (e) Cromatografiar en capa fina utilizando como sistema de elución metanol-cloroformo (7:3). Observar bajo luz ultravioleta de corta y larga longitud de onda.

| DESARROLLO DE UN GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE MANUFACTURA | |
|---|--|--|---------------------------------------|----------------------------------|
| | | | Peo: TDF-001 | Página 1 de 4 |
| Escrita por: Fermín Alejandro Tobero López. | Revisada por: Q.F.B. Leonor del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

1.- ALCANCE:

Este Procedimiento Estándar de Manufactura será de observancia obligatoria en las instalaciones en donde se elabore el estudio respectivo y de conocimiento de todo el personal involucrado.

2.- Tamaño estándar del lote: 1000 mL.

3.- Descripción: Gel incoloro, claro, de sabor y olor característico.

4.- FORMULACIÓN:

| COMPONENTE | PARA 40 mL | PARA 1000 mL |
|----------------------------|------------|--------------|
| Hidroxipropilmetilcelulosa | 0.4880 g | 12.2g |
| Carbopol 934P | 0.1360 g | 3.4 g |
| Propilparabeno | 20 mg | 500 mg |
| Metilparabeno | 20 mg | 500 mg |
| Glicerina | 8 mL | 200 mL |
| Nonoxynol-9 | 7.5 % | 7.5 % |
| EDTA | 0.2000 g | 5 g |
| Agua desionizada c.b.p. | 40 mL | 1000 mL |

5.- MATERIAL Y EQUIPO:

- 2 vasos de precipitados de 1000 mL.
- 2 vasos de precipitados de 50 mL.
- 2 pipetas graduadas de 10 mL.
- 2 pipetas graduadas de 1 mL.
- 2 termómetros (-10 a 100 °C)
- 1 parrilla de calentamiento con agitación magnética.
- 2 barras de agitación magnética.
- 1 picnómetro de 25 mL.

| DESARROLLO DE UN GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE MANUFACTURA | |
|---|---|---|---------------------------------------|------------------------|
| | | | Pco: TDF-001 | Página 2 de 4 |
| Escrita por: Fernando Alejandro Tenorio López. | Revisada por: Q.F.B. Leonor del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: 2002 | Próxima Revisión: 2003 |

- 1 Balanza analítica.
- 1 Viscosímetro Brookfield con aguja del número 3.

6.- SEGURIDAD:

El personal involucrado en la manufactura y control del granel debe portar bata blanca, limpia, en buen estado, cerrada (abotonada), cubrebocas y guantes de cirujano en buen estado. No debe portar ningún tipo de joyería o maquillaje. El personal que opere los equipos requeridos en este proceso, deberá observar cuidadosamente las instrucciones e indicaciones de seguridad del equipo.

7.- PROCEDIMIENTO:




7.1 Surtido y pesado de las materias primas

- (a) Verificar el orden y la limpieza de la central de pesadas asignada.
- (b) Verificar la identidad de cada uno de los contenedores de las materias primas requeridas.
- (c) Verificar que las materias primas que va a emplear estén aprobadas.
- (d) Verificar la pesada de cada una de las materias primas requeridas.
- (e) Identificar cada una de las materias primas pesadas.
- (f) Trasladar las materias primas una vez que han sido verificadas al cubículo de manufactura asignado.
- (g) Verificar el orden y la limpieza del cubículo de la central de pesadas una vez terminado el proceso de surtido y pesado.

| DESARROLLO DE UN GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE MANUFACTURA | |
|---|--|---|---------------------------------------|-------------------------------|
| | | | Peo: TDF-001 | Página 3 de 4 |
| Escrita por: Fermín Alejandro Tencio López | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Monrágón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

7.2 Manufactura del granel

- (a) Verificar el orden y la limpieza del cubículo y equipo asignado.
- (b) Identificar el cubículo asignado.
- (c) Disolver 12.2 g de hidroxipropilmetilcelulosa en 100 mL de agua desionizada caliente (80 a 90 °C). Agitar continuamente hasta enfriar a temperatura ambiente.
- (d) Disolver 3.4 g de carbopol 934P en 50 mL de agua desionizada a temperatura ambiente con agitación vigorosa.
- (e) Mezclar las fases obtenidas en los pasos (c) y (d). Agitar suavemente hasta incorporación total.
- (f) Disolver los parabenos en 50 mL de agua caliente con agitación vigorosa. Agregar a lo obtenido en el punto (e). Agitar suavemente hasta incorporación total.
- (g) Disolver el EDTA en 100 mL de agua con agitación moderada. Agregar la disolución resultante a lo obtenido en (f). Agitar suavemente hasta incorporación total.
- (h) Adicionar 200 mL de glicerina a lo obtenido en el paso (g). Agitar suavemente hasta incorporación total.
- (i) Adicionar 7.5 % de INonoxynol-9 . Agitar suavemente hasta incorporación total.
- (j) Inducir la gelificación ajustando el pH a 5.5 mediante la adición, gota a gota y con agitación moderada, de trietanolamina.
- (k) Ajustar el volumen final a 1000 mL.

| DESARROLLO DE UN GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE MANUFACTURA | |
|---|--|--|---------------------------------------|-------------------------------|
| | | | Pec: TDF-001 | Página 4 de 4 |
| Escrita por:  Fernando Alejandro Tenorio López. | Revisada por:  Q.F.B. Leonarop del Valle Mondragón. | Aprobada por:  Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

8.- ACONDICIONAMIENTO:

Realizar el acondicionamiento en tubos de plástico opacos de polietileno de 40 mL de capacidad.

NOTAS:

1. Los controles a producto terminado serán: Apariencia, pH, viscosidad y tensoactividad indirecta. Como referencia, se sugiere emplear un producto comercial.

| CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|---|---|---|-------------------------------------|------------------------|
| | | | Peo: TDF-001 | Página 1 de 4 |
| Escrita por: <i>[Firma]</i> Ferreira Alejandro Tenorio López. | Revisada por: <i>[Firma]</i> Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón. | Aprobada por: <i>[Firma]</i> Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: 2002 | Próxima Revisión: 2003 |

1.- **ALCANCE:** Este Procedimiento Estándar de Operación será de observancia obligatoria en las instalaciones en donde se elabore el estudio respectivo y de conocimiento de todo el personal involucrado.

2.- **Tamaño estándar del lote: 1000 mL.**

3.- **Descripción:** Gel incoloro, claro, de sabor y olor característico.

4.- **FORMULACIÓN DEL GEL A ANALIZAR:**

| COMPONENTE | PARA 40 mL | PARA 1000 mL |
|----------------------------|------------|--------------|
| Hidroxipropilmetilcelulosa | 0.4880 g | 12.2g |
| Carbopol 934P | 0.1360 g | 3.4 g |
| Propilparabeno | 20 mg | 500 mg |
| Metilparabeno | 20 mg | 500 mg |
| Glicerina | 8 mL | 200 mL |
| Nonoxynol-9 | 7.5 % | 7.5 % |
| EDTA (grado R.A.) | 0.2000 g | 5 g |
| Agua desionizada c.b.p. | 40 mL | 1000 mL |

4.1 **Formulación del reactivo de Mayer**

| COMPONENTE | PARA 5 mL | PARA 100 mL |
|---------------------------------------|-----------|-------------|
| Cloruro de mercurio (II) (grado R.A.) | 67.8 mg | 1.3550 g |
| Yoduro de potasio (grado R.A.) | 250.0 mg | 5.0000 g |
| Agua desionizada c.b.p. | 5 mL | 100 mL |

| CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|---|---|---|-------------------------------------|-------------------------------|
| | | | Pco: TDF-001 | Página 2 de 4 |
| Escrito por: Fernando Alejandro Tenorio López. | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

5.- MATERIAL Y EQUIPO:

- 2 vasos de precipitados de 100 mL.
- 2 barras de agitación magnética.
- 1 matraz aforado de 100 mL.
- Tubos de ensaye de 16 x 150 mm
- 1 espátula de cromo-niquel.
- 1 pipeta de 5 mL.
- 1 propipeta.
- 1 parrilla de calentamiento con agitación magnética.
- 1 espectrofotómetro de UV-Visible de doble haz (SLM-AMINCO modelo DW-2000).
- 1 vórtex.
- 1 Balanza analítica.
- Celdas de acrílico para espectrofotómetro de 3 mL de capacidad.

6.- SEGURIDAD:

El personal involucrado en la cuantificación del principio activo debe portar bata blanca, limpia, en buen estado, cerrada (abotonada), cubrebocas y guantes de cirujano en buen estado. No debe portar ningún tipo de joyería o maquillaje. El personal que opere los equipos requeridos en este proceso, deberá observar cuidadosamente las instrucciones e indicaciones de seguridad del equipo.

| CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|---|---|---|-------------------------------------|------------------------|
| | | | Pro: TDF-001 | Página 3 de 4 |
| Escrita por: Fernando Alejandro Tenorio López. | Revisada por: Q.F.B. Leonor del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: 2002 | Próxima Revisión: 2003 |

7.- PROCEDIMIENTO:

7.1 Surtido y pesado de las materias primas:

- (a) Verificar el orden y la limpieza de la central de pesadas asignada.
- (b) Verificar la identidad de cada uno de los contenedores de las materias primas requeridas.
- (c) Verificar que las materias primas que va a emplear estén aprobadas.
- (d) Verificar la pesada de cada una de las materias primas requeridas.
- (e) Identificar cada una de las materias primas pesadas.
- (f) Trasladar las materias primas una vez que han sido verificadas al cubículo de manufactura asignado.
- (g) Verificar el orden y la limpieza del cubículo de la central de pesadas una vez terminado el proceso de surtido y pesado.

7.2 Elaboración del Reactivo de Mayer (reactivo no iónico):

- (a) Disolver 1.3550 g de cloruro de mercurio (II) en 40 mL de agua desionizada. Agitar vigorosamente hasta disolución total.
- (b) Disolver 5.0000 g de yoduro de potasio en 40 mL de agua desionizada. Agitar moderadamente hasta disolución total.
- (c) Mezclar ambas disoluciones en un matraz aforado de 100 mL. Aforar a 100 mL con agua desionizada.
- (d) Si el reactivo no va a ser utilizado inmediatamente, almacenarlo a 4 °C.

| CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|--|---|---|-------------------------------------|-------------------------------|
| | | | Pro: TDF-001 | Página 4 de 4 |
| Escrita por: <i>Fernando Alejandro Teheró López</i> Fernando Alejandro Teheró López. | Revisada por: <i>Q.F.B. Leonardo del Valle Montañón</i> Q.F.B. Leonardo del Valle Montañón. | Aprobada por: <i>Q.F.B. Ernestina Hernández García</i> Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

7.3 Procedimiento de análisis:

- (a) En un tubo de ensayo de 16 x 150 mm pesar 0.9800 g del gel a analizar.
- (b) Agregar 1 mL de agua desnionizada.
- (c) Agitar en un vórtex hasta homogenización total.
- (d) Agregar 5 mL del reactivo no iónico.
- (e) Agitar en un vórtex durante 20 segundos.
- (f) Leer en un espectrofotómetro de UV-Visible de doble haz a una longitud de onda de 460 nm ajustando a cero con un blanco de gel placebo.

| PRUEBAS DE CICLADO POR TEMPERATURA PARA GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|---|--|--|--|---------------------------|
| | | | Feo: TDF-001 | Página 1 de 3 |
| Escrita por: Fernán Alejandro Teodoro López. | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: 2002 | Próxima Revisión: 2003 |

1.- **ALCANCE:** Este Procedimiento Estándar de Operación será de observancia obligatoria en las instalaciones en donde se elabore el estudio respectivo y de conocimiento de todo el personal involucrado.

2.- **Tamaño estándar del lote: 1000 mL.**

3.- **Descripción: Gel incoloro, claro, de sabor y olor característico.**

4.- **FORMULACIÓN DEL GEL A ANALIZAR:**

| COMPONENTE | PARA 40 mL | PARA 1000 mL |
|----------------------------|------------|--------------|
| Hidroxipropilmetilcelulosa | 0.4880 g | 12.2g |
| Carbopol 934P | 0.1360 g | 3.4 g |
| Propilparabeno | 20 mg | 500 mg |
| Metilparabeno | 20 mg | 500 mg |
| Glicerina | 8 mL | 200 mL |
| Nonoxynol-9 | 7.5 % | 7.5 % |
| EDTA | 0.2000 g | 5 g |
| Agua desionizada c.b.p. | 40 mL | 1000 mL |

5.- **MATERIAL Y EQUIPO:**

- 2 vasos de precipitados de 100 mL.
- 7 vasos de precipitados de 50 mL.
- 2 barras de agitación magnética.
- 1 matraz aforado de 100 mL.
- Tubos de ensaye de 16 x 150 mm
- 1 espátula de cromo-niquel.

| PRUEBAS DE CICLADO POR TEMPERATURA PARA GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|---|--|--|--|----------------------------------|
| | | | Peo: TDF-001 | Página 2 de 3 |
| Escrita por: Fermín Alejandro Tenaño López. | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Monbragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

- 1 pipeta de 5 mL.
- 1 propipeta.

6.- MATERIAL Y EQUIPO:

- 1 termómetro de -10 a 100 °C.
- 7 unidades de producción del gel debidamente envasadas.
- 1 parrilla de calentamiento con agitación magnética.
- 1 espectrofotómetro de UV-Visible de doble haz (SLM-AMINCO modelo DW-2000).
- 1 vórtex.
- 1 Balanza analítica.
- Celdas de acrílico para espectrofotómetro de 3 mL de capacidad.
- 1 Estufa.

7.- SEGURIDAD:

El personal involucrado en la realización y control de los estudios debe portar bata blanca, limpia, en buen estado, cerrada (abotonada), cubrebocas y guantes de cirujano en buen estado. No debe portar ningún tipo de joyería o maquillaje. El personal que opere los equipos requeridos en este proceso, deberá observar cuidadosamente las instrucciones e indicaciones de seguridad del equipo.

8.- PROCEDIMIENTO:

- (a) Encender la estufa y ajustar a una temperatura de 40 ± 2 °C
- (b) Introducir 7 tubos debidamente acondicionados con gel.

| PRUEBAS DE CICLADO POR TEMPERATURA PARA GEL ANTICONCEPTIVO | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN | |
|--|---|---|--|----------------------------------|
| | | | Peo: TDF-001 | Página 3 de 3 |
| Escrita por: Fernando Alejandro Teresa López. | Revisada por: Q.F.B. Leonardo del Valle Mondragón. | Aprobada por: Q.F.B. Ernestina Hernández García. | En vigor: <u>2002</u> | Próxima Revisión: <u>2003</u> |

- (c) Mantener bajo estas condiciones durante 24 horas.
- (d) Terminado este periodo de tiempo, introducir los tubos con gel al refrigerador (4 ± 2 °C).
- (e) Repetir los pasos de los incisos (c) y (d) hasta completar un periodo de 7 días.
- (f) Al término de este lapso, dejar reposar los tubos hasta que se encuentren a temperatura ambiente.
- (g) Vaciar el contenido de los tubos en contenido de los tubos en un vaso de precipitados y observar cuidadosamente para verificar si hay algún cambio en las propiedades organolépticas del gel.
- (h) Cuantificar el principio activo conforme lo indicado en el procedimiento estándar de operación **CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA** (páginas 74 a 77).

RESULTADOS

A) ESTUDIO DE DEGRADACIÓN DEL NONOXYNOL-9:

Para realizar este estudio, se observaron las condiciones experimentales indicadas en el Procedimiento Estándar de Operación mostrado en las páginas 68 a 69. Los sistemas de elución y revelado se encuentran plasmados en las referencias bibliográficas 1 y 2.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla I.

TABLA I. RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS ESTUDIOS DE DEGRADACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO.

| MEDIO DE REACCIÓN | OBSERVACIONES* |
|------------------------------|--|
| Ácido sulfúrico 7 N | El principio activo mostró un patrón de elución similar al observado con un estándar de nonoxynol-9 sin tratamiento en medio ácido. No hubo la presencia de manchas, diferentes al estándar, que sugirieran la presencia de productos de degradación. |
| Hidróxido de sodio 7 N | Se observó gelificación total de la muestra. El patrón de elución observado sugiere la presencia de otros productos (presumiblemente, productos de degradación). |
| Peróxido de hidrógeno al 30% | No se observan diferencias respecto al patrón de elución entre el estándar empleado y la muestra sometida al medio de reacción fuertemente oxidante. |

* Resultados del análisis visual y cromatográfico en capa fina, bajo luz ultravioleta de baja y alta longitud de onda.

RESOLUCIÓN DEL ANÁLISIS:

De los resultados obtenidos en el presente estudio, se infiere que el principio activo es estable tanto en un medio fuertemente ácido como en uno altamente oxidante. En contraste, un medio sumamente alcalino lo hace inestable.

B) DISEÑO DE EXPERIMENTOS FACTORIAL 2⁴:

Se realizaron dos diseños de experimentos considerando dos variables controlables, dos variables de respuesta (viscosidad y tensoactividad indirecta) y dos réplicas.

Primer diseño experimental:

Las variables controlables fueron, para este caso, las siguientes:

A = Concentración de Carbopol 934P.

B = Concentración de Glicerina.

Los niveles considerados para cada variable control se muestran en la tabla II.

TABLA II. NIVELES CONSIDERADOS PARA LAS VARIABLES CONTROLABLES.

| VARIABLE CONTROLABLE | NIVEL MÍNIMO (-) | NIVEL MÁXIMO (+) |
|--------------------------------|------------------|------------------|
| Concentración de Carbopol 934P | 0.25 % | 0.75 % |
| Concentración de Glicerina | 0.00 % | 10.00 % |

Niveles Mínimo (-) y Máximo (+) tomados de: Lee CH., *et al. J. Pharm. Sci.* 1996, **85**:6:649-654.

Los resultados obtenidos para la viscosidad se muestran en la tabla III.

TABLA III. DETERMINACIONES EXPERIMENTALES DE LA VISCOSIDAD.

| ALEATORIZACIÓN | A | B | k ₁ (cps) | k ₂ (cps) | TOTAL | PROMEDIO |
|----------------|---|---|----------------------|----------------------|-------|----------|
| 1 | - | - | 1500 | * | 1500 | 1500 |
| 4 | + | - | 3500 | 12500 | 16000 | 8000 |
| 2 | - | + | 2500 | * | 2500 | 2500 |
| 3 | + | + | 35000 | * | 35000 | 35000 |

* Valores no determinados por falla en el equipo.

La matriz de signos y el análisis de varianza (ANOVA) para la variable de respuesta considerada se muestra en las tablas IV y V, como a continuación se indica:

TABLA IV. MATRIZ DE SIGNOS PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA VISCOSIDAD.

| A | B | k ₁ (cps) | k ₂ (cps) | TOTAL | PROMEDIO | COLUMNA 1 | COLUMNA 2 | EFECTO |
|---|---|----------------------|----------------------|-------|----------|-----------|-----------|--------|
| - | - | 1500 | * | 1500 | 1500 | 17500 | 55000 | 13750 |
| + | - | 3500 | 12500 | 16000 | 8000 | 37500 | 47000 | 11750 |
| - | + | 2500 | * | 2500 | 2500 | 14500 | 20000 | 5000 |
| + | + | 35000 | * | 35000 | 35000 | 32500 | 18000 | 4500 |

* Valores no determinados por falla en el equipo.

TABLA V. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA VISCOSIDAD.

| FACTOR | S.C. | g.l. | S.C.M. | F _{calculada} |
|--------|-------------|------|-----------|------------------------|
| A | 276125000 | 1 | 276125000 | 16.7666 |
| B | 50000000 | 1 | 50000000 | 3.0301 |
| AB | 40500000 | 1 | 40500000 | 2.4592 |
| ERROR | 65875000 | 4 | 16468750 | ----- |
| TOTAL | 796999998.5 | 8 | ----- | ----- |

F_{teórica} = 7.71

El criterio de aceptación para la significancia de un factor, para todos los casos, es:

$$F_{calculada} > F_{teórica}$$

Considerando lo anterior, la ecuación que describe a la variable de respuesta viscosidad es la siguiente:

$$\text{Viscosidad} = 11000 + 5875 A$$

Donde A = Concentración de Carbopol 934P.

Los resultados obtenidos para la tensoactividad indirecta se muestran en la tabla VI.

TABLA VI. DETERMINACIONES EXPERIMENTALES DE LA TENSOACTIVIDAD INDIRECTA.

| ALEATORIZACIÓN | A | B | k ₁ (g) | k ₂ (g) | TOTAL | PROMEDIO |
|----------------|---|---|--------------------|--------------------|--------|----------|
| 1 | - | - | 0.398 | 0.388 | 0.7860 | 0.3930 |
| 4 | + | - | 0.772 | 0.802 | 1.5740 | 0.7870 |
| 2 | - | + | 0.609 | 0.655 | 1.2640 | 0.6320 |
| 3 | + | + | 2.452 | 2.664 | 5.1160 | 2.5580 |

La matriz de signos y el ANOVA para la variable de respuesta en estudio se muestra en las tablas VII y VIII, como a continuación se indica:

TABLA VII. MATRIZ DE SIGNOS PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA TENSOACTIVIDAD INDIRECTA.

| A | B | k ₁ (g) | k ₂ (g) | TOTAL | PROMEDIO | COLUMNA 1 | COLUMNA 2 | EFECTO |
|---|---|--------------------|--------------------|--------|----------|-----------|-----------|--------|
| - | - | 0.398 | 0.388 | 0.7860 | 0.3930 | 2.36 | 8.74 | 2.1850 |
| + | - | 0.772 | 0.802 | 1.5740 | 0.7870 | 6.38 | 4.64 | 1.16 |
| - | + | 0.609 | 0.655 | 1.2640 | 0.6320 | 0.7880 | 4.02 | 1.0050 |
| + | + | 2.452 | 2.664 | 5.1160 | 2.5580 | 3.8520 | 3.0640 | 0.7660 |

TABLA VIII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA TENSOACTIVIDAD INDIRECTA.

| FACTOR | S.C. | g.l. | S.C.M. | F _{calculada} |
|--------|--------|------|--------|------------------------|
| A | 2.6912 | 1 | 2.6912 | 434.0645 |
| B | 2.0201 | 1 | 2.0201 | 325.8226 |
| AB | 1.1735 | 1 | 1.1735 | 189.3226 |
| ERROR | 0.0246 | 4 | 0.0062 | ----- |
| TOTAL | 5.9094 | 7 | ----- | ----- |

F_{teórica} = 7.71

La ecuación que describe a la variable de respuesta en estudio es la siguiente:

$$\text{Tensoactividad indirecta} = 1.0925 + 0.58 A + 0.5025 B + 0.3830 AB$$

Segundo diseño experimental:

Las variables controlables fueron, para este caso, las siguientes:

A = Concentración de Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

B = Concentración de Glicerina.

Los niveles considerados para cada variable control se muestran en la tabla IX

TABLA IX. NIVELES CONSIDERADOS PARA LAS VARIABLES CONTROLABLES.

| VARIABLE CONTROLABLE | NIVEL MÍNIMO (-) | NIVEL MÁXIMO (+) |
|----------------------------|------------------|------------------|
| Concentración de HPMC | 0.5 % | 1.5 % |
| Concentración de Glicerina | 10.0 % | 20.0 % |

Los resultados obtenidos para la viscosidad se muestran en la tabla X.

TABLA X. DETERMINACIONES EXPERIMENTALES DE LA VISCOSIDAD.

| ALEATORIZACIÓN | A | B | k ₁ (cps) | k ₂ (cps) | TOTAL | PROMEDIO |
|----------------|---|---|----------------------|----------------------|-------|----------|
| 1 | - | - | 800 | 920 | 1720 | 860 |
| 4 | + | - | 7440 | * | 7440 | 7440 |
| 2 | - | + | 780 | * | 780 | 780 |
| 3 | + | + | 12200 | 12000 | 24200 | 12100 |

* Valores no determinados por falla en el equipo.

La matriz de signos y el ANOVA para la variable de respuesta en estudio se muestra en las tablas XI y XII, como a continuación se muestra:

TABLA XI. MATRIZ DE SIGNOS PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA VISCOSIDAD.

| A | B | k ₁ (cps) | k ₂ (cps) | TOTAL | PROMEDIO | COLUMNA 1 | COLUMNA 2 | EFFECTO |
|---|---|----------------------|----------------------|-------|----------|-----------|-----------|---------|
| - | - | 800 | 920 | 1720 | 860 | 9160 | 34140 | 8535 |
| + | - | 7440 | * | 7440 | 7440 | 24980 | 29140 | 7285 |
| - | + | 780 | * | 780 | 780 | 5720 | 15820 | 3820 |
| + | + | 12200 | 12000 | 24200 | 12100 | 23420 | 17700 | 4425 |

* Valores no determinados por falla en el equipo.

TABLA XII. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA VISCOSIDAD.

| FACTOR | S.C. | g.l. | S.C.M. | F _{calculada} |
|--------|-------------|------|------------|------------------------|
| A | 106142450 | 1 | 106142450 | 10.1434 |
| B | 31284050 | 1 | 31284050 | 2.9896 |
| AB | 39161250 | 1 | 39161250 | 3.7424 |
| ERROR | 41856770.01 | 4 | 10464192.5 | ----- |
| TOTAL | 218444520 | 8 | ----- | ----- |

F_{teórica} = 7.71

La ecuación que describe a la variable de respuesta en estudio es la siguiente:

$$\text{Viscosidad} = 5690 + 3642.5 A$$

Donde A = Concentración de HPMC

Los resultados obtenidos para la tensoactividad indirecta se muestran en la tabla XIII.

TABLA XIII. DETERMINACIONES EXPERIMENTALES DE LA TENSOACTIVIDAD INDIRECTA.

| ALEATORIZACIÓN | A | B | k ₁ (g) | k ₂ (g) | TOTAL | PROMEDIO |
|----------------|---|---|--------------------|--------------------|---------|----------|
| 1 | - | - | 1.4380 | 1.4140 | 2.8520 | 1.4260 |
| 4 | + | - | 1.5620 | 1.6652 | 3.2272 | 1.6136 |
| 2 | - | + | 5.3096 | 3.9645 | 12.2441 | 6.1221 |
| 3 | + | + | 3.8831 | 4.8191 | 8.7022 | 4.3511 |

La matriz de signos y el ANOVA para la variable de respuesta en estudio se muestra en las tablas XIV y XV, como se indica a continuación:

TABLA XIV. MATRIZ DE SIGNOS PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA TENSOACTIVIDAD INDIRECTA.

| A | B | k ₁ (g) | k ₂ (g) | TOTAL | PROMEDIO | COLUMNA 1 | COLUMNA 2 | EFECTO |
|---|---|--------------------|--------------------|---------|----------|-----------|-----------|----------|
| - | - | 1.4380 | 1.4140 | 2.8520 | 1.4260 | 6.0792 | 27.0255 | ----- |
| + | - | 1.5620 | 1.6652 | 3.2272 | 1.6136 | 20.9463 | - 3.1667 | - 0.7917 |
| - | + | 5.3096 | 6.9345 | 12.2441 | 6.1221 | 0.3752 | 14.8851 | 3.7213 |
| + | + | 3.8831 | 4.8191 | 8.7022 | 4.3511 | - 3.5419 | - 3.9171 | - 0.9793 |

TABLA XV. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA TENSOACTIVIDAD INDIRECTA.

| FACTOR | S.C. | g.l. | S.C.M. | F _{calculada} |
|--------|---------|------|---------|------------------------|
| A | 1.2535 | 1 | 1.2535 | 2.9522 |
| B | 27.6958 | 1 | 27.6958 | 65.2280 |
| AB | 1.9180 | 1 | 1.9180 | 4.5172 |
| ERROR | 1.6982 | 4 | 0.4246 | ----- |
| TOTAL | 32.5655 | 7 | ----- | ----- |

F_{teórica} = 7.71

La ecuación que describe a la variable de respuesta en estudio es la siguiente:

$$\text{Tensoactividad indirecta} = 3.3782 + 1.8607 B$$

Donde B = Concentración de Glicerina

Las determinaciones experimentales (viscosidad, densidad y tensoactividad indirecta) realizadas a un producto comercial (SoftLube®) se muestran en la tabla XVI.

TABLA XVI. DETERMINACIONES EXPERIMENTALES REALIZADAS A UN PRODUCTO COMERCIAL (SoftLube®)

| DETERMINACIÓN | VALOR EXPERIMENTAL |
|--------------------------|---------------------------|
| Densidad | 0.98 g/mL |
| Viscosidad | 7250 cps |
| Tensoactividad indirecta | 5.218 g |

Considerando los valores experimentales anteriores y las ecuaciones matemáticas obtenidas, el diseño de experimentos factorial 2^k predice que para que la formulación presente características comparables a las del producto comercial, las variables controlables deben tener los siguientes valores reales:

$$\text{Concentración de Carbopol 934P} = 0.34 \%$$

$$\text{Concentración de HPMC} = 1.22 \%$$

$$\text{Concentración de Glicerina} = 20.0 \%$$

C) VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:

I.- Sistema.

a) Selectividad.

Se observaron las condiciones de análisis indicadas en el Procedimiento Estándar de Operación CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA (páginas 74 a 77), obteniéndose los siguientes resultados:

| ABSORBANCIA OBTENIDA ($\lambda = 460 \text{ nm}$) |
|---|
| 0.0000 |
| 0.0000 |
| 0.0000 |

De los resultados anteriores, se infiere que: **EL SISTEMA ES SELECTIVO.**

b) Linealidad.

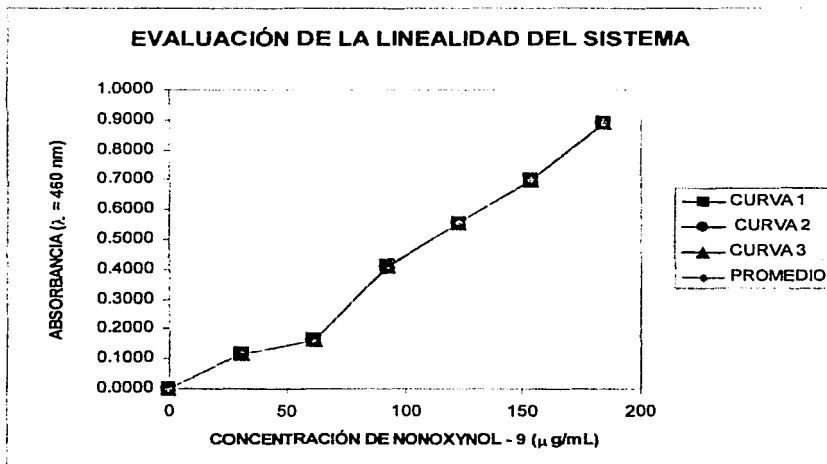
Se preparó una curva patrón como a continuación se indica. Para las condiciones de análisis, refiérase al Procedimiento Normalizado de Operación citado en el punto anterior.

| [NONOXYNOL - 9] ($\mu\text{g/mL}$) | % NONOXYNOL - 9 |
|--------------------------------------|-----------------|
| 0.0 | 0.0 |
| 30.7 | 20.5 |
| 61.4 | 40.9 |
| 92.2 | 61.5 |
| 122.9 | 81.9 |
| 153.6 | 102.4 |
| 184.3 | 122.9 |

Los resultados que se obtienen son los siguientes:

| [N - 9] ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | CURVA 1 ($\lambda = 460 \text{ nm}$) | CURVA 2 ($\lambda = 460 \text{ nm}$) | CURVA 3 ($\lambda = 460 \text{ nm}$) | ABSORBANCIA PROMEDIO ($\lambda = 460 \text{ nm}$) | S_t | C.V. (%) |
|--|---|---|---|--|------------|----------|
| 0 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | ----- | ----- |
| 30.7 | 0.1179 | 0.1170 | 0.1170 | 0.1173 | 5.1962 E-4 | 0.4430 |
| 61.4 | 0.1638 | 0.1647 | 0.1638 | 0.1641 | 5.1962 E-4 | 0.3166 |
| 92.2 | 0.4104 | 0.4113 | 0.4095 | 0.4104 | 9 E - 4 | 0.2193 |
| 122.9 | 0.5535 | 0.5553 | 0.5562 | 0.5550 | 0.0014 | 0.2523 |
| 153.6 | 0.7011 | 0.6993 | 0.6993 | 0.6999 | 0.0010 | 0.1429 |
| 184.3 | 0.8892 | 0.8883 | 0.8892 | 0.8889 | 5.1962 E-4 | 0.0585 |

Los resultados obtenidos (Absorbancia vs. Concentración) se muestran en la siguiente gráfica:



El análisis mediante regresión lineal de cada curva se muestra a continuación:

| CURVA 1 | CURVA 2 | CURVA 3 | CURVA PROMEDIO |
|----------------|----------------|----------------|----------------|
| $m = 0.0040$ | $m = 0.0040$ | $m = 0.0040$ | $m = 0.0040$ |
| $b = -0.0470$ | $b = -0.0470$ | $b = -0.0476$ | $b = -0.0472$ |
| $r = 0.9910$ | $r = 0.9911$ | $r = 0.9910$ | $r = 0.9910$ |
| $R^2 = 0.9821$ | $r^2 = 0.9823$ | $r^2 = 0.9821$ | $r^2 = 0.9822$ |

C.V. (%) = 0.2388

El comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación para la linealidad del sistema se indican a continuación:

| PARÁMETRO EXPERIMENTAL | CRITERIO DE ACEPTACIÓN |
|------------------------|------------------------|
| $r = 0.9910$ | $r \geq 0.99$ |
| $r^2 = 0.9821$ | $r^2 \geq 0.98$ |
| C.V. (%) = 0.2388 | C.V. (%) ≤ 2.50 |

De los resultados anteriores se infiere que: **EL SISTEMA ES LINEAL.**

II.- Método:

a) Selectividad.

Se observaron las condiciones de análisis indicadas en el Procedimiento Estándar de Operación CUANTIFICACIÓN DE NONOXYNOL-9 EN GELES ANTICONCEPTIVOS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA (páginas 74 a 77), obteniéndose los siguientes resultados:

| ABSORBANCIA OBTENIDA ($\lambda = 460 \text{ nm}$) |
|---|
| 0.0000 |
| 0.0000 |
| 0.0000 |

De los resultados anteriores se infiere que: **EL MÉTODO ES SELECTIVO.**

b) Linealidad.

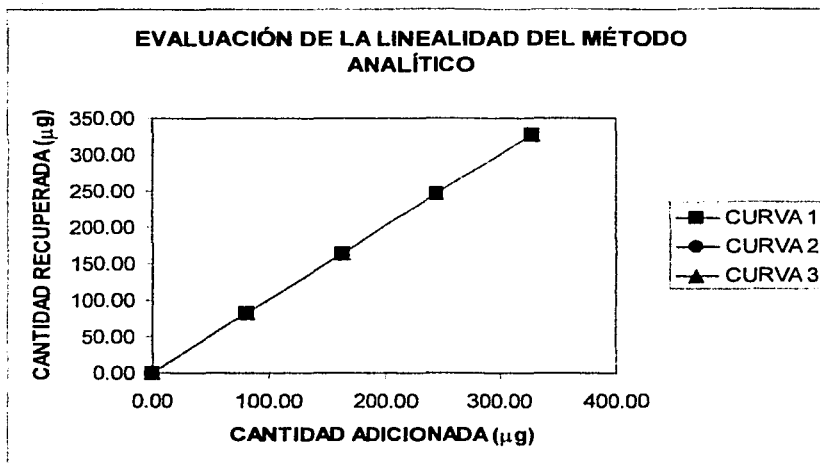
Se preparó una serie de placebos cargados como se indica a continuación:

| PLACEBO | [N-9] ($\mu\text{g/mL}$) | VOLUMEN DISOLUCIÓN STOCK N-9 (mL) [2186 $\mu\text{g/mL}$] | VOLUMEN DE GEL (mL) | VOLUMEN TOTAL (mL) |
|----------------|--|---|--------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 0.00 | 0.0 | 40.0 | 40 |
| 2 | 81.98 | 1.5 | 38.5 | 40 |
| 3 | 163.95 | 3.0 | 37.0 | 40 |
| 4 | 245.93 | 4.5 | 35.5 | 40 |
| 5 | 327.90 | 6.0 | 34.0 | 40 |

Las condiciones de análisis son las establecidas en el Procedimiento Normalizado de Operación ya referido (páginas 74 a 77). Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

| CANTIDAD ADICIONADA (μg) | CANTIDAD RECUPERADA 1 (μg) | CANTIDAD RECUPERADA 2 (μg) | CANTIDAD RECUPERADA 3 (μg) |
|---|---|---|---|
| 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 81.98 | 81.90 | 81.95 | 81.95 |
| 163.95 | 163.93 | 163.91 | 163.94 |
| 245.93 | 245.87 | 245.89 | 245.86 |
| 327.90 | 327.80 | 327.85 | 327.92 |

Los resultados obtenidos (Cantidad recuperada vs. Cantidad adicionada) se muestran en la siguiente gráfica:



El análisis mediante regresión lineal de cada curva se muestra a continuación:

| CURVA 1 | CURVA 2 | CURVA 3 | CURVA PROMEDIO |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| m = 0.9998 | m = 0.9990 | m = 0.9999 | m = 0.9996 |
| b = -0.0160 | b = -0.0100 | b = -0.0147 | b = -0.0136 |
| r = 1.0000 | r = 1.0000 | r = 1.0000 | r = 1.0000 |
| R ² = 1.0000 | r ² = 1.0000 | r ² = 1.0000 | r ² = 1.0000 |

C.V. (%) = 0.0493

El análisis del Porcentaje de Recobro se muestra a continuación:

| CANTIDAD ADICIONADA (μg) | PORCENTAJE DE RECOBRO 1 (%) | PORCENTAJE DE RECOBRO 2 (%) | PORCENTAJE DE RECOBRO 3 (%) | PORCENTAJE DE RECOBRO PROMEDIO (%) | S_x | C.V. (%) |
|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|--------|----------|
| 0.00 (Blanco) | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | ----- | ----- |
| 81.98 | 99.9024 | 99.9634 | 99.9634 | 99.9431 | 0.0352 | 0.0352 |
| 163.95 | 99.9878 | 99.9756 | 99.9939 | 99.9858 | 0.0093 | 0.0093 |
| 245.93 | 99.9756 | 99.9837 | 99.9715 | 99.9769 | 0.0062 | 0.0062 |
| 327.90 | 99.9695 | 99.9848 | 100.0061 | 99.9868 | 0.0184 | 0.0184 |

P.R. (%)_P = 99.9431

C.V. (%)_P = 0.0352

El comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación para la linealidad del método analítico se indican a continuación:

| PARÁMETRO EXPERIMENTAL | CRITERIO DE ACEPTACIÓN |
|------------------------|------------------------|
| $m_P = 0.9999$ | $m = 1.00$ |
| $b_P = -0.0147$ | $b \approx 0.00$ |
| $r_P = 1.0000$ | $r \geq 0.99$ |
| $r^2_P = 1.0000$ | $r^2 \geq 0.98$ |
| $C.V. (\%)_P = 0.0352$ | $C.V. (\%) \leq 2.50$ |

De los resultados anteriores se infiere que: **EL MÉTODO ANALÍTICO ES LINEAL.**

c) **Exactitud.**

Se preparó una serie de placebos cargados como se indica a continuación:

| PLACEBO | [N-9] ($\mu\text{g/mL}$) | VOLUMEN DISOLUCIÓN STOCK N-9 (mL) (2186 $\mu\text{g/mL}$) | VOLUMEN DE GEL (mL) | VOLUMEN TOTAL (mL) |
|---------|-------------------------------|---|---------------------|--------------------|
| 1 | 0.00 | 0.0 | 40.0 | 40 |
| 2 | 81.98 | 1.5 | 38.5 | 40 |
| 3 | 163.95 | 3.0 | 37.0 | 40 |
| 4 | 245.93 | 4.5 | 35.5 | 40 |
| 5 | 327.90 | 6.0 | 34.0 | 40 |

Las condiciones de análisis son las establecidas en el Procedimiento Normalizado de Operación ya referido (páginas 74 a 77). Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

| CANTIDAD ADICIONADA (μg) | CANTIDAD RECUPERADA (μg) | PORCENTAJE DE RECOBRO (%) |
|--|--|------------------------------|
| 0.00 (Blanco) | 0.00 | 0.0000 |
| 81.98 | 81.87 | 99.8658 |
| 163.95 | 163.85 | 99.9390 |
| 245.93 | 245.80 | 99.9471 |
| 327.90 | 327.75 | 99.9543 |

| |
|-------------------------|
| $P.R. (\%)_p = 99.9266$ |
| $S_z = 0.04100$ |
| $C.V. (\%) = 0.04100$ |

El comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación para la exactitud del método analítico se indican a continuación:

| PARÁMETRO EXPERIMENTAL | CRITERIO DE ACEPTACIÓN |
|-------------------------|----------------------------------|
| $C.V. (\%) = 0.0410$ | $C.V. (\%) \leq 2.5$ |
| $P.R. (\%)_p = 99.9266$ | $98.0 \leq P.R. (\%) \leq 102.0$ |

De los resultados anteriores, se infiere que: **EL MÉTODO ANALÍTICO ES EXACTO.**

d) Precisión.

Se procedió a la preparación de placebos cargados tal y como ya se ha indicado en los puntos b) y c) mostrados anteriormente. Las condiciones generales de análisis son las mismas que las indicadas en el Procedimiento Normalizado de Operación respectivo (páginas 74 a 77). Los resultados que se obtienen para la evaluación de la precisión del método analítico son los siguientes:

| CANTIDAD ADICIONADA (μg) | CANTIDAD RECUPERADA 1 (μg) | CANTIDAD RECUPERADA 2 (μg) | CANTIDAD RECUPERADA 3 (μg) |
|---|---|---|---|
| BLANCO | | | |
| 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| CURVA A | | | |
| 81.98 | 81.80 | 81.90 | 81.84 |
| 81.98 | 81.90 | 82.15 | 81.95 |
| 81.98 | 81.85 | 81.90 | 82.10 |
| CURVA B | | | |
| 163.95 | 163.90 | 163.80 | 164.05 |
| 163.95 | 163.85 | 163.75 | 163.90 |
| 193.95 | 163.90 | 163.85 | 163.80 |
| CURVA C | | | |
| 245.93 | 246.10 | 245.85 | 245.85 |
| 245.93 | 245.88 | 245.90 | 245.82 |
| 245.93 | 245.90 | 245.90 | 246.10 |
| CURVA D | | | |
| 327.90 | 328.15 | 327.80 | 327.80 |
| 327.90 | 327.82 | 328.15 | 327.95 |
| 327.90 | 327.80 | 327.96 | 327.80 |

El análisis de los porcentajes de recobro se muestra a continuación:

| PORCENTAJE DE RECOBRO CURVA A (%) | PORCENTAJE DE RECOBRO CURVA B (%) | PORCENTAJE DE RECOBRO CURVA C (%) | PORCENTAJE DE RECOBRO CURVA D (%) |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 99.7804 | 99.9695 | 100.0691 | 100.0762 |
| 99.9024 | 99.9390 | 99.9797 | 99.9756 |
| 99.8414 | 99.9695 | 99.9878 | 99.9695 |
| 99.9024 | 99.9085 | 99.9675 | 99.9695 |
| 100.2074 | 99.8780 | 99.9878 | 100.0762 |
| 99.9024 | 99.9390 | 99.9878 | 100.0183 |
| 99.8292 | 100.6133 | 99.9675 | 99.9695 |
| 99.9634 | 99.9695 | 99.9553 | 100.0152 |
| 100.1464 | 99.9085 | 100.0691 | 99.9695 |

| | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| P.R. (%) _r = 99.9417 | P.R. (%) _r = 100.0105 | P.R. (%) _r = 99.9968 | P.R. (%) _r = 100.0043 |
| S _r = 0.1442 | S _r = 0.2283 | S _r = 0.0425 | S _r = 0.0452 |
| C.V. (%) = 0.1443 | C.V. (%) = 0.2283 | C.V. (%) = 0.0425 | C.V. (%) = 0.0452 |

El comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación para la precisión del método analítico son los siguientes:

| PARÁMETRO EXPERIMENTAL | CRITERIO DE ACEPTACIÓN |
|---------------------------------|---|
| P.R. (%) _p = 99.9883 | $98.0 \leq \text{P.R. (\%)} \leq 102.0$ |
| C.V. (%) = 0.1151 | $\text{C.V. (\%)} \leq 2.5$ |

De los resultados anteriores, se infiere que: **EL MÉTODO ANALÍTICO ES PRECISO.**

D) PRUEBAS DE CICLADO POR TEMPERATURA PARA GELES ANTICONCEPTIVOS.

(a) Evaluación de las propiedades organolépticas.

Las condiciones de experimentación para estas pruebas son las descritas en el Procedimiento Normalizado de Operación indicado en las páginas 78 a 80. Asimismo, las condiciones de análisis para la cuantificación del surfactante no iónico presente en la formulación fueron las indicadas en el Procedimiento Normalizado de Operación descrito en las páginas 74 a 77.

El comparativo entre las determinaciones experimentales realizadas a la formulación en estudio y las determinaciones realizadas a un producto comercial (SoftLube[®], gel lubricante) se muestran a continuación:

| DETERMINACIONES EXPERIMENTALES REALIZADAS A LA FORMULACIÓN DESARROLLADA | DETERMINACIONES REALIZADAS AL PRODUCTO COMERCIAL (SOFTLUBE[®]) |
|--|--|
| pH = 5.5 | pH = 5.5 |
| Viscosidad = 7248 cps | Viscosidad = 7250 cps |
| Tensoactividad indirecta = 5.220 g | Tensoactividad indirecta = 5.218 g |
| Densidad = 0.98 g/mL | Densidad = 0.98 g/mL |

RESOLUCIÓN DEL ANÁLISIS:

Considerando los resultados anteriores, al comparar el gel anticonceptivo y lubricante desarrollado respecto a un lubricante comercial, no se observaron cambios apreciables en las propiedades organolépticas realizadas, por lo que se considera que la formulación en desarrollo es equiparable.

(b) Cuantificación del principio activo.

Los resultados obtenidos, indicados como el Porcentaje de Recobro respecto a la cantidad adicionada, se muestran a continuación:

| CANTIDAD ADICIONADA (μg) | CANTIDAD RECUPERADA (μg) | PORCENTAJE DE RECOBRO (%) |
|--|--|------------------------------|
| 163.95 | 163.90 | 99.9654 |
| 163.95 | 163.85 | 99.9390 |
| 163.95 | 163.90 | 99.9695 |

| |
|---------------------------------------|
| P.R. (%)_p = 99.9580 |
| C.V. (%) = 0.0166 |

El comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación se muestran a continuación:

| PARÁMETRO EXPERIMENTAL | CRITERIO DE ACEPTACIÓN |
|---------------------------------|--|
| P.R. (%) _p = 99.9580 | $98.0 \leq \text{P.R.}(\%) \leq 102.0$ |
| C.V. (%) = 0.0166 | $\text{C.V.}(\%) \leq 2.5$ |

RESOLUCIÓN DEL ANÁLISIS

La cantidad de principio activo presente en la formulación desarrollada se encuentra dentro de los límites de especificación plasmados por los criterios de aceptación con base en las guías de Validación de Métodos Analíticos editadas por la Comisión Internacional de Armonización (véanse referencias bibliográficas 6 y 7).

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

La obtención de una formulación que cumpla con requisitos de desempeño que la hagan idónea para el uso por el cual fue diseñada, es a menudo una tarea compleja en la que puede invertirse mucho tiempo, recursos, entre otros aspectos, y no siempre llegar a una formulación que pueda considerarse como ideal.

Mediante el uso de experimentos tipo factorial 2^k se pueden identificar las variables controlables que tienen influencia sobre una variable de respuesta (que para este caso se consideraron como tales la viscosidad, la tensoactividad indirecta, pH y apariencia). Ello tiene como ventaja principal diseñar una serie de experimentos controlados que pretenden investigar la interacción e influencia de las variables controlables sobre las variables de respuesta en estudio. Si se logra identificar las variables controlables que resultan más relevantes para una variable de respuesta dada, es posible obtener un producto cuyas características nominales cumplan con lo especificado para un estándar, o bien, cumplan con los requerimientos para su uso, que el proceso tenga buenos rendimientos, que el tiempo dedicado al desarrollo sea menor, lo que se traduce en una disminución en los costos globales y que el producto obtenido sea de mayor confiabilidad.

Las variables controlables que se consideraron para el desarrollo del gel anticonceptivo y lubricante fueron la concentración de polímeros (hidroxipropilmetilcelulosa y Carbopol 934P) y la concentración de humectante (glicerina). La concentración de polímeros en un gel resulta crucial pues de ésta depende el arreglo matricial del gel, lo que da como resultado que la formulación sea estable a cambios de pH, asimismo los principios activos embebidos en la matriz deben mostrar un buen perfil de liberación, un perfil adecuado de bio y mucoadhesión, lo que es necesario para que la formulación desarrollada permanezca en su sitio de aplicación (generalmente, la porción posterior de la vagina) con el objeto de prevenir el transporte de los espermatozoides desde el cérvix al sitio de fertilización, debido a que, *in vivo*, la formulación estará sujeta a varias fuerzas de fricción debidas a: (a) movimientos de la superficie del endotelio vaginal, (b) fuerzas gravitacionales, (c) flujos capilares, (d) coito *per se* y (e) efectos de dilución debidos a los fluidos vaginales, los que modificará en grado sustancial, si es que la formulación desarrollada no muestra características reológicas adecuadas.

En este trabajo, debido a que diversas investigaciones demuestran que los geles elaborados con matrices formadas con hidroxipropilmetilcelulosa y Carbopol 934P, en concentraciones que deben ser meticulosamente determinadas, muestran excelentes características de viscosidad, liberación de principios activos, estabilidad a cambios de pH y que el gel muestre un buen perfil de bio y mucoadhesión. Es por ello que se empleó el diseño de experimentos tipo factorial 2^k en el que se investigó la influencia de la concentración de estos dos polímeros sobre la viscosidad y la tensoactividad indirecta como indicadora del grado de humectación del gel. Adicionalmente, un hidrogel debe proporcionar un buen grado de humectación y/o lubricación para que su aplicación sea cómoda, por lo que se hizo uso de la glicerina como humectante, investigando también su interacción con la concentración de los polímeros y cómo se ven modificadas la viscosidad y la tensoactividad indirecta.

Mediante la realización de experimentos debidamente aleatorizados, se obtuvieron ecuaciones matemáticas que describen a la variable de respuesta en función de las variables controlables consideradas. Tales ecuaciones matemáticas, combinadas con determinaciones experimentales realizadas a un producto comercial (SoftLube[®], gel lubricante), permitieron establecer que la concentración de polímeros y humectante deben ser las siguientes:

Concentración de Carbopol 934P = 0.34 %

Concentración de HPMC = 1.22 %

Concentración de Glicerina = 20.0 %

Otros factores a considerar en una formulación de este tipo, es el espermicida a emplear, así como otras variables (como los son pH y adición de un agente quelante) para aumentar la eficacia del espermicida utilizado (Nonoxynol-9), teniendo cuidado de utilizar concentraciones que se encuentren dentro de lo especificado por organismos normativos como la Food and Drug Administration y el Centro de Control de Enfermedades Infecciosas, ambos organismos de los Estados Unidos de Norteamérica, en donde se indica que el surfactante no iónico es un espermicida seguro y eficaz para uso humano a concentraciones no mayores de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para aumentar la eficacia del espermicida y no emplear concentraciones que probablemente causen los efectos adversos que ya han sido descritos, la adición de un agente quelante, como el EDTA, permite formar un compuesto de coordinación con el calcio presente en el semen, lo que

disminuirá la movilidad de los espermatozoides en modo apreciable. Bajo estas condiciones, la concentración mínima efectiva del Nonoxynol-9 se ha estimado que oscila entre 125 a 175 $\mu\text{g/mL}$, lo cual está dentro de los parámetros especificados por los organismos normativos de los Estados Unidos de Norteamérica. Adicionalmente, el pH de la formulación es ligeramente ácido, pues investigaciones realizadas respecto a la movilidad de los espermatozoides a diversos pH's, así como la eficacia de los espermicidas respecto a cambios en el pH, se ha establecido que a un pH entre 5.4 a 5.5, se aumenta también la mucoadhesividad de los geles a la mucosa vaginal, y que este pH permite inmovilizar aún más a los espermatozoides. Adicionalmente, el Tergitol TP-9 no es estable en medios alcalinos, pero sí lo es en medios fuertemente ácidos y oxidantes (ver página 82).

Respecto a la cuantificación del principio activo presente en el gel así desarrollado, tanto la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica en su edición más reciente (USP 24, véase referencia bibliográfica 2), únicamente reporta el análisis del surfactante como materia prima, más no propone un análisis a producto terminado en alguna forma farmacéutica. En otras publicaciones, se reporta la cuantificación del Nonoxynol-9 en lavados vaginales, fluidos biológicos y como materia prima (véanse la referencias bibliográficas 11 a 15). En todas ellas, los investigadores se abocan a desarrollar un método de cuantificación mediante cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE) que han mostrado ser adecuados para cuantificar el surfactante no iónico en matrices más simples, como lo son los lavados vaginales, en fluidos biológicos y como materia prima que, básicamente, pueden considerarse como disoluciones acuosas.

Adicionalmente, un análisis por CLAE es un análisis sumamente minucioso que requiere de tiempos de análisis de al menos 20 minutos, disolventes grado HPLC, lo que incrementa ostensiblemente su costo, pues son disolventes de elevada pureza, equipo, detectores acoplados al cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia, la columna, y otros accesorios como prefiltros, hacen que el análisis mediante esta técnica no sea una opción rentable para realizar controles al producto durante el proceso de fabricación, por lo que se requiere de un método de cuantificación igualmente selectivo, sensible, rápido y económico que permita hacer un seguimiento de la concentración del Igepal CO-630 durante todo el proceso de fabricación e, inclusive, a producto terminado.

Es por ello, que se desarrolló un método basado en la metodología reportada previamente por Kho y Stolten (véanse las referencias bibliográficas.53 a 55), pues presenta la ventaja de poder adaptarse a matrices que varíen en su grado de complejidad, desde fluidos biológicos, soluciones de limpieza de tipo acuoso y tipo gel, además presenta ventajas como las siguientes: (a) no presenta interferencias por la presencia de compuestos no aniónicos (como surfactantes no aniónicos como lo son el palmitato de sodio, el diestearato de aluminio y el ácido cólico, entre otros), (b) el análisis puede efectuarse a temperatura ambiente y en un intervalo de pH amplio y (c) no hay interferencia por la presencia de electrolitos.

Originalmente, el método era de tipo cualitativo pues se basaba en la comparación visual de una disolución estándar con una serie de disoluciones de prueba. En este caso, se hicieron las modificaciones pertinentes para que el método pudiera adaptarse a una modalidad cuantitativa, utilizando un espectrofotómetro de doble haz, leyendo los estándares y muestras a una longitud de onda de 460 nm, longitud de onda de máxima absorción del complejo formado entre el surfactante no iónico y el Reactivo de Mayer.

El método analítico así modificado y sometido a una validación acorde a los requerimientos legales y técnicos vigentes en la Industria Farmacéutica Nacional (ver la referencia bibliográfica 5) y plasmado en documentos internacionales como las guías de Validación de Métodos Analíticos editadas por la Comisión Internacional de Armonización (véanse las referencias bibliográficas 6 y 7), demostró ser un método analítico selectivo (ver página 92), lineal (con un Porcentaje de Recobro promedio del 99.9431 % y un coeficiente de variación promedio del 0.0352 %), lo que está dentro de los criterios de aceptación para la linealidad de un método analítico de tipo espectrofotométrico (ver página 95 para ver el comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación), exacto (con un Porcentaje de Recobro promedio del 99.9266 % y un coeficiente de variación promedio del 0.0410 %), lo que se encuentra dentro de los criterios de aceptación (ver página 96 para el comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación) y preciso (con un Porcentaje de Recobro promedio del 99.9883 % y un coeficiente de variación del 0.1151 %), parámetros que cumplen con los criterios de aceptación (ver página 98 para el comparativo entre los parámetros experimentales obtenidos y los criterios de aceptación).

Respecto a las pruebas de ciclado por temperatura, éstas pueden ser consideradas pruebas indicadoras de la estabilidad de la forma farmacéutica en estudio debido a que la formulación se somete a cambios bruscos de temperatura durante un periodo de 7 días (ciclos de 24 x 24 horas de 37 ± 2 °C y 4 ± 2 °C hasta completar el periodo de ciclado térmico). Básicamente, aquí se pretenden evaluar cambios en las propiedades organolépticas de la formulación. Si estas pruebas ponen de manifiesto algún cambio de color, apariencia, textura, concentración del activo, se considera indicativo de la no estabilidad de la formulación propuesta, por lo que es necesario reformular hasta no observar cambio alguno en estas pruebas.

Los resultados observados en estas pruebas (ver páginas 99 a 100) ponen de manifiesto que aún bajo cambios bruscos de temperatura durante un periodo de tiempo corto, la formulación desarrollada no presenta cambios en el pH, viscosidad y tensoactividad indirecta comparadas con las mismas determinaciones experimentales realizadas a un producto comercial, así como tampoco se observan cambios en la cantidad de principio activo presente en el gel, determinado mediante las condiciones de análisis propuestas en el Procedimiento Normalizado de Operación respectivo (ver páginas 74 a 77), obteniéndose un Porcentaje de Recobro promedio del 99.9580 % y un coeficiente de variación promedio del 0.0166 %, por lo que la formulación desarrollada puede considerarse como idónea pues mantiene las características de desempeño requeridas para su uso como gel anticonceptivo y lubricante.

CONCLUSIONES

- Mediante el uso del diseño de experimentos tipo factorial 2^k se encontró una formulación que presenta características de desempeño comparables (pH, viscosidad y tensoactividad indirecta) a un producto comercial.
- El método analítico de Kho y Stolten modificado, después de ser validado de acuerdo a los criterios plasmados en las Guías de Validación de Métodos Analíticos editadas por la Comisión Internacional de Armonización, demostró ser selectivo, lineal, exacto y preciso para la cuantificación de Nonoxynol-9 mediante espectrofotometría en geles anticonceptivos.
- Las pruebas de ciclado por temperatura mostraron que la formulación desarrollada mediante la aplicación del diseño de experimentos tipo factorial 2^k mostró ser una formulación idónea pues no hay cambios en sus propiedades organolépticas y cantidad de principio activo.
- Con la investigación realizada, se infiere directamente que se obtuvieron las condiciones de desarrollo de la formulación propuesta para subsanar el problema social en torno a la demanda insatisfecha de alternativas anticonceptivas y, por tanto, a la posible comercialización de esta alternativa anticonceptiva.
- Sin embargo, es necesario realizar las pruebas de estabilidad a largo plazo, determinación de la vida de anaquel, de eficacia y seguridad requeridas por la Secretaría de Salubridad y Asistencia y, en un futuro, solicitar el registro del producto ante este organismo normativo.

BIBLIOGRAFÍA.

1. The Merck Index on CD-ROM. Versión 12.1
2. United States Pharmacopeial Convention. 2000. The United States Pharmacopeia 24. p. 1194-1196.
3. Raymond E, Alvarado G, Ledesma L, Díaz S, *et al.* Acceptability of Two Spermicides in Five Countries. *Contraception*. 1999, **60**:45-50.
4. Ladipo OA, De Castro MP, Filho L, Coutinho E, *et al.* A new vaginal antimicrobial contraceptive formulation: phase I clinical pilot studies. *Contraception*. 2000, **62**:91-97.
5. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos. 1989. Validación de Métodos Analíticos. México.
6. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Text on Validation of Analytical Procedures. 1994.
7. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures Methodology. 1996.
8. Lee CH, Anderson M, Chien YW. Characterization of *in-Vitro* Spermicidal Activity of Chelating Agent against Human Sperm. *J. Pharm. Sci.* 1996, **85**:6:649-654.
9. Lee CH, Bagdon R, Chien YW. Comparative *in Vitro* Spermicidal Activity of Chelating Agents and Synergistic Effect with Nonoxynol-9 on Human Sperm Functionality. *J. Pharm. Sci.* 1996, **85**:1:91-95.
10. Long GL, Winefordner JD. Limit of Detection: A Closer Look at the IUPAC Definition. *Anal. Chem.* 1983, **55**:7:712 A – 724 A.
11. McPherson JL, Nichols JH, Barditch-Crovo P, Hamzeh FM. Determination of the spermicide nonoxynol-9 in vaginal lavage by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B.* 1996, **677**:204-208.
12. Beck GJ, Kossak D, Saxena SJ. A Simple, Sensitive Assay for the Spermicide Nonoxynol-9 in Biological Fluids by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Pharm. Sci.* 1990, **79**:11:1029-1031.
13. Escott REA, Brinkworth SJ, Steedman TA. The Determination of Ethoxylate Oligomer Distribution of Non-ionic and Anionic Surfactants by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 1983, **282**: 655-661.
14. Rothman AM. High-performance liquid chromatographic method for determining ethoxymer distribution of alkylphenoxy polyoxyethylene surfactants. *J. Chromatogr.* 1982, **253**:283-288.

15. Holt MS, McKerrell EH, Perry J, Watkinson RJ. Determination of alkylphenol ethoxylates in environmental samples by high-performance liquid chromatography coupled to fluorescence detection. *J. Chromatogr.* 1986, 362:419-424.
16. Enyeart, C.R. Polyoxyethylene Alkylphenols. In Schick, M.J. (Ed.). 1967. Non-ionic Surfactants. Ed. Marcel Dekker. New York. p. 44-85.
17. Morgan DJ. The micro-determination of non-ionic surface-active agents containing poly(ethylene oxide) linkages. *Analyst.* 1962, 87:233-234.
18. Van der Hoeve JA. Analysis of textile auxiliary products. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.* 1948, 67:649-664.
19. Rieger, M.M. Surfactants. In Lieberman, H.A., Rieger, M.M., Banker, G.S. (Eds.). 1988. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems. Volume I. Ed. Marcel Dekker. New York. p. 285-366.
20. Ansel, H.C., Popovich, N.G. 1990. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 5ª edición. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. p. 225-254.
21. Sandell, E.B. 1959. Colorimetric Determination of Trace Metals. 3ª edición. Ed. Interscience Publishers. New York. p. 409-436.
22. Martin, A. 1993. Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences. 4ª edición. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. p. 496-511.
23. Wade, A, Weller, P.J. (Eds.). 1994. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2ª edición. Ed. American Pharmaceutical Association/The Pharmaceutical Press. Inglaterra. p. 49-51, 71-73, 191-193, 204-206, 229-232, 538-539.
24. Savle PS, Doncel GF, Bryant SD, Hubieki MP, *et al.* Acylcarnitine analogues as topical, microbicidal spermicides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, 9:2545-2548.
25. McCrystal CB, Ford JL, Rajabi-Siahboomi AR. A study on the interaction of water and cellulose ethers using differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta.* 1997, 294:91-98.
26. Simovic S, Tamburic S, Milic-Askrabic J, Rajic D. An investigation into interactions between polyacrylic polymers and non-ionic surfactant: an emulsion preformulation study. *International Journal of Pharmaceutics.* 1999, 284:207-217.
27. Jackson SJ, Bush D, Perkins AC. Comparative scintigraphic assessment of the intragastric distribution and residence of cholestyramine, Carbopol 934P and sucralfate. *International Journal of Pharmaceutics.* 2001, 212:55-62.
28. Raymond E, Dominik R, The Spermicide Trial Group. Contraceptive Effectiveness of Two Spermicides: A Randomized Trial. *Obstetrics & Gynecology.* 1999, 93:6:896-903.

29. D'Cruz OJ, Yiv SH, Waurzyniak B, Uckun FM. Contraceptive efficacy and safety studies of a novel microemulsion-based lipophilic vaginal spermicide. *Fertility and Sterility*. 2001, 75:115-124.
30. Reid G, Bialkowska-Hobrzanska H, Van der Mei HC, Busscher HJ. Correlation between genetic, physico-chemical surface characteristics and adhesion of four strains of *Lactobacillus*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 1999, 13:75-81.
31. Lee CH, Bagdon RE, Bhatt PP, Chien YW. Development of silicone-based devices for controlled delivery of spermicidal agents. *Journal of Controlled Release*. 1997, 44:43-53.
32. Lee CH, Bhatt PP, Chien YW. Effect of excipient on drug release and permeation from silicone-based barrier devices. *Journal of Controlled Release*. 1997, 43:283-290.
33. Galembeck E, Alonso A, Correa-Meirelles N. Effects of polyoxyethylene chain length on erythrocyte hemolysis induced by poly[oxethylene (*n*) nonylphenol] non-ionic surfactants. *Chemico-Biological Interactions*. 1998, 113: 91-103.
34. Owen DH, Dunmire EN, Plenys AM, Katz DF. Factors influencing nonoxynol-9 permeation and bioactivity in cervical mucus. *Journal of Controlled Release*. 1999, 60: 23-34.
35. Dorozhkin SV. Is there a chemical interaction between calcium phosphates and hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) in organic/inorganic composites? *J. Biomed. Mater. Res*. 2001, 54:247-255.
36. Perez-Marcos H, Ford L, Armstrong DJ, Elliott PNC, *et al*. Influence of pH on the Release of Propanolol Hydrochloride from Matrices Containing Hydroxypropylmethylcellulose K4M and Carpbol 974. *J. Pharm. Sci*. 1996, 85:3:330-334.
37. Krebs FC, Miller SR, Malamud D, Howett MK, *et al*. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by nonoxynol-9, C31G, or an alkyl sulphate, sodium doceceyl sulfate. *Antiviral Research*. 1999, 43: 147-163.
38. McColongue CW, Malamud D, Vanderlick TK. Interaction of DPPC monolayers with soluble surfactants: electrostatic effects of membrane perturbants. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1998, 1372: 124-134.
39. Gutiérrez de Rubalcava C, Rodríguez JL, Duro R, Álvarez-Lorenzo C, *et al*. Interactions between liposomes and hydroxypropylmethylcellulose. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000, 203: 99-108.
40. Senior K. Molecular medicine and population control. *Molecular Medicine Today*. 1997, 12: 528-532.
41. Phillips DM, Taylor CL, Zacharopoulos VR, Maguire RA. Nonoxynol-9 causes rapid exfoliation of sheets of rectal epithelium. *Contraception*. 2000, 62: 149-154.

42. Burillo CA, Fontenot JD, Phillips DM. Sulfated polysaccharides block chlamydia infection *in vitro*, but do not protect mice from vaginal inoculation. *Microbial Pathogenesis*. 1998, **24**:253-256.
43. Viegas TX, Henry RL. Osmotic behavior of poloxamer 407 and other non-ionic surfactants in aqueous solutions. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998, **160**:157-162.
44. Hosea NA, Guengerich FP. Oxidation of Nonionic Detergents by Cytochrome P450 Enzymes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1998, **353**:2:365-373.
45. D'Cruz OJ, Uckun FM. Intravaginal Toxicity Studies of a Gel-Microemulsion Formulation of Spermicidal Vanadocenes in Rabbits. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2001, **170**: 104-112.
46. Neurath AR, Strick N, Li YY, Lin K, *et al.* Design of a "Microbicide" for Prevention of Sexually Transmitted Diseases Using "Inactive" Pharmaceutical Excipients. *Biologicals*. 1999, **27**: 11-21.
47. Owen DH, Peters JJ, Katz DF. Rheological properties of contraceptive gels. *Contraception*. 2000, **62**:321-326.
48. Riley RG, Smart JD, Tsibouklis J, Dettmar PW, *et al.* An investigation of mucus/polymer rheological synergism using synthesized and characterised poly(acrylic acid)s. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001, **217**: 87-100.
49. Amaral E, Faúndes A, Zaneveld L, Waller D, *et al.* Study of the Vaginal Tolerance to Acidform, and Acid-Buffering, Bioadhesive Gel. *Contraception*. 1999, **60**:361-366.
50. Booth RE, Zhang Y, Kwiatkowski CF. The challenge of changing drug and sex risk behaviors of runaway and homeless adolescents. *Child Abuse & Neglect*. 1999, **23**:12:1295-1306.
51. Olmsted SS, Dubin NH, Cone RA, Moench TR. The rate at which human sperm are immobilized and killed by mild acidity. *Fertility and Sterility*. 2000, **73**:4:687-693.
52. Nakanishi T, Kaiho F, Hayashi M. Use of sodium salt of Carbopol 934P in oral peptide delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998, **171**: 177-183.
53. Stevenson DG. The Absorptiometric Determination of a Non-ionic Detergent. *Analyst*. 1954, **79**: 504-507.
54. Williams RJP. A Systematic Approach to the Choice of Organic Reagents for Metal Ions. *Analyst*. 1953, **78**:586-594.
55. Siggia, S., Hanna, J.G. 1979. Quantitative Organic Analysis via Functional Groups. 4^a edición. Ed. John Wiley and Sons. New York. p. 294-303.
56. Consejo Nacional de Población. 2000. Cuadernos de salud reproductiva: República Mexicana.
57. Poder Ejecutivo Federal. Programa Nacional de Población 1995-2000. México. p. 29.

58. Partida, V., Rodríguez, C. 1999. La revolución silenciosa: el descenso de la fecundidad en México. Ed. CONAPO. México. p. 29, 30.
59. García, B. 1976. Anticoncepción en el México rural, 1969. Ed. El Colegio de México. México. p. 30
60. Mojarro, O., Zúñiga, E. 1999. Veinticinco años de planificación familiar en México. Ed. CONAPO. México. p. 204
61. Montgomery, D.C. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Ed. Grupo Editorial Iberoamérica. México. p. 1-11.
62. Morgan, E. 1991. Chemometrics: Experimental Design. Ed. John Wiley and Sons. London. p. 49-54, 81-114.
63. Kellner, R., Mermet, J.M., Otto, M., Widmer, H.M. 1998. Analytical Chemistry: The Approved Text to the FECS Curriculum Analytical Chemistry. Ed. Wiley-VCH. Francia. p. 760-771.
64. Zatz, J.L., Kushla, G.P. Gels. In Lieberman, H.A., Rieger, M.M. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Volume 2. Ed. Marcel Dekker. New York. p. 495-510.
65. Cheng, K.L., Prather, J.W. Ultraviolet and Visible Absorption Spectroscopy. In Bauer, H.H., Christian, G.D., O'Reilly, J.E. 1978. Instrumental Analysis. Ed. Allyn and Bacon. Boston. p. 154-200.
66. Ewing, G.W. Instrumental Methods of Chemical Analysis. 2ª edición. Ed. McGraw-Hill Book Company. New York. p. 15-74.
67. Skoog, D.A., Leary, J.J. 1994. Análisis Instrumental. 4ª edición. Ed. McGraw-Hill. España. p. 91, 92.
68. Harris, D.C. 1992. Análisis Químico Cuantitativo. Ed. Grupo Editorial Iberoamérica. México. p. 505-508.