



Title: A spectrophotometric method for the quantification of clotrimazole from polymeric nanoparticles to Candida albicans vaginal infections treatment

Authors: MARTÍNEZ-PÉREZ, Beatriz, MORALES-RODRIGUEZ, Miguela, CISNEROS-TAMAYO, Ricardo and PIÑÓN-SEGUNDO, Elizabeth

Editorial label ECORFAN: 607-8695
BCIERMMI Control Number: 2022-01
BCIERMMI Classification (2022): 261022-0001

Pages: 14
RNA: 03-2010-032610115700-14

ECORFAN-México, S.C.
143 – 50 Itzopan Street
La Florida, Ecatepec Municipality
Mexico State, 55120 Zipcode
Phone: +52 1 55 6159 2296
Skype: ecorfan-mexico.s.c.
E-mail: contacto@ecorfan.org
Facebook: ECORFAN-México S. C.
Twitter: @EcorfanC

www.ecorfan.org

Holdings		
Mexico	Colombia	Guatemala
Bolivia	Cameroon	Democratic
Spain	El Salvador	Republic
Ecuador	Taiwan	of Congo
Peru	Paraguay	Nicaragua

Introducción

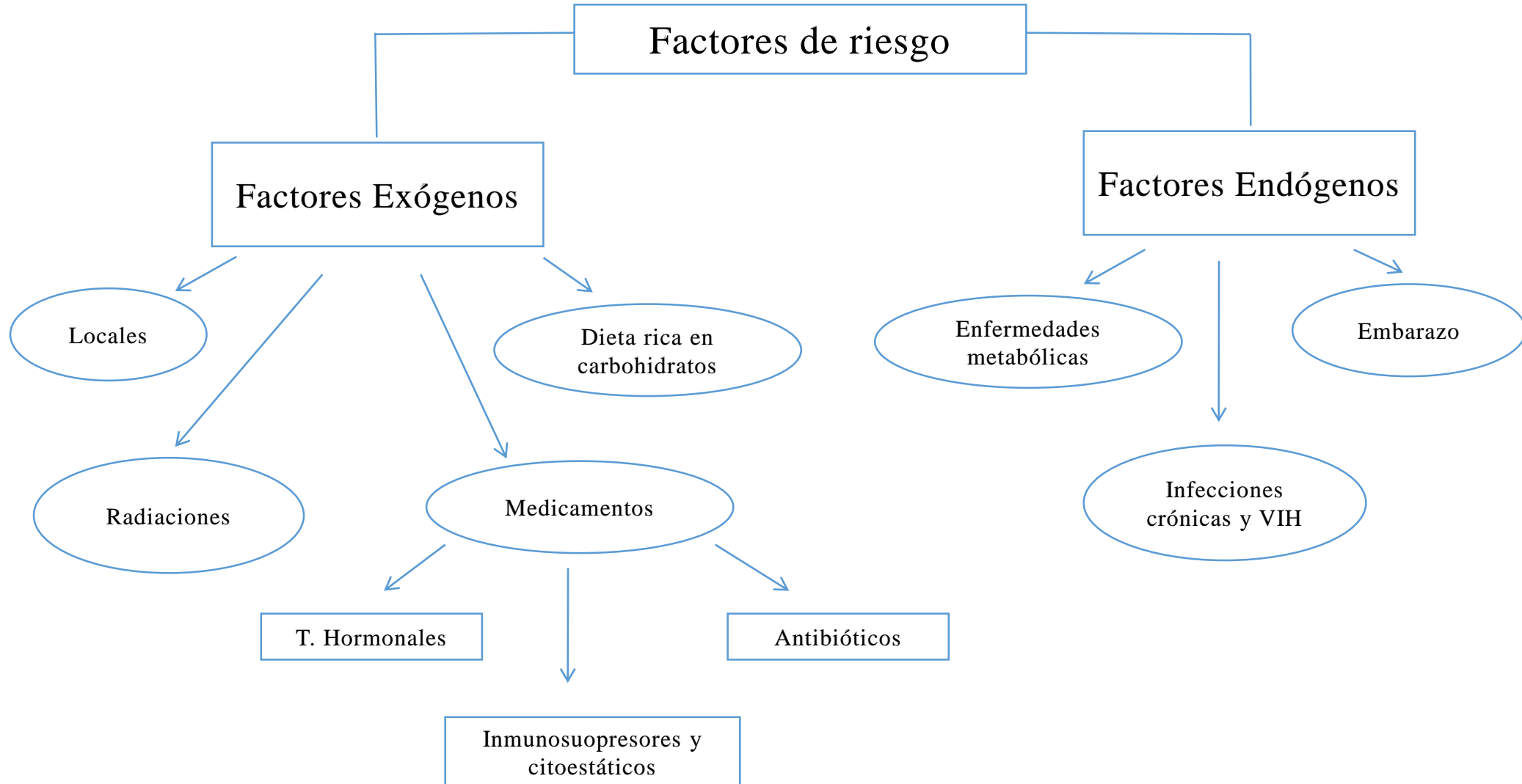
Proceso inflamatorio
de alta morbilidad¹



Mayor frecuencia en
mujeres adultas

La candidiasis causada por *Candida spp.*, es la segunda infección vaginal más frecuente.

Introducción



Introducción

Medicamentos convencionales de administración vía vaginal con efectos locales



Geles



Cremas



Supositorios vaginales



Tabletas



Duchas o espumas



Sprays

Ventajas

Fácil acceso
Fácil administración
Bajo costo

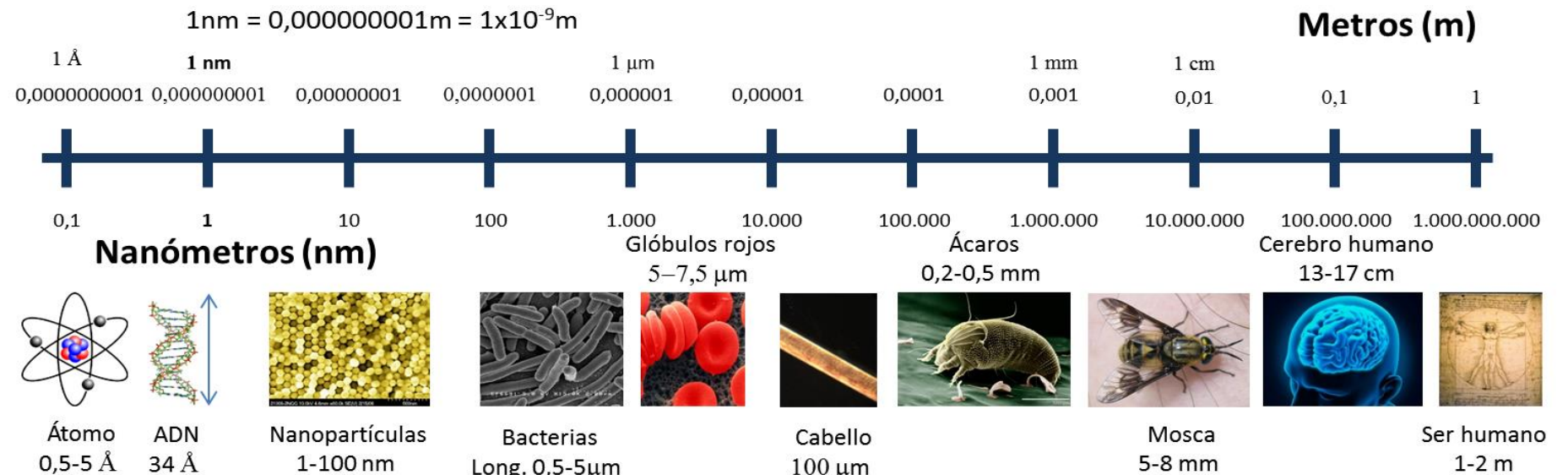
➤ Incomodidad
Esgurrimiento
Limita la permanencia del fármaco
Abandono de tratamiento

Desventajas

- Abandono del tratamiento.
- Reincidencia.

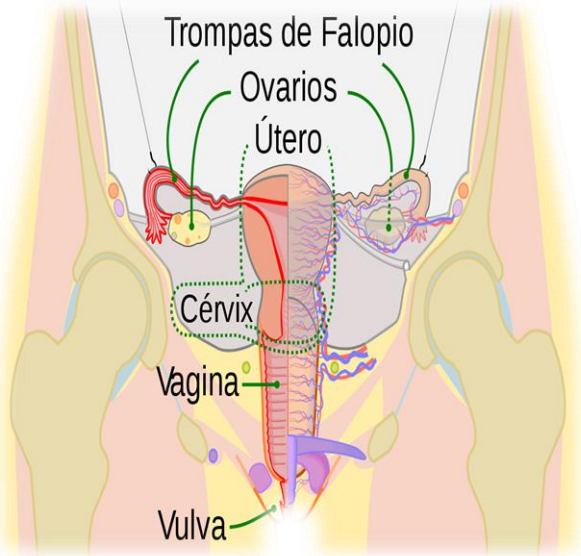
Introducción

Nanopartícula: Sólido coloidal del rango en tamaño de 1 a 1000 nm (1 μm), constituido de material macromolecular (polimérico) usado terapéuticamente como acarreador de fármacos, los cuales pueden estar atrapados, adsorbidos o ligados a su superficie.

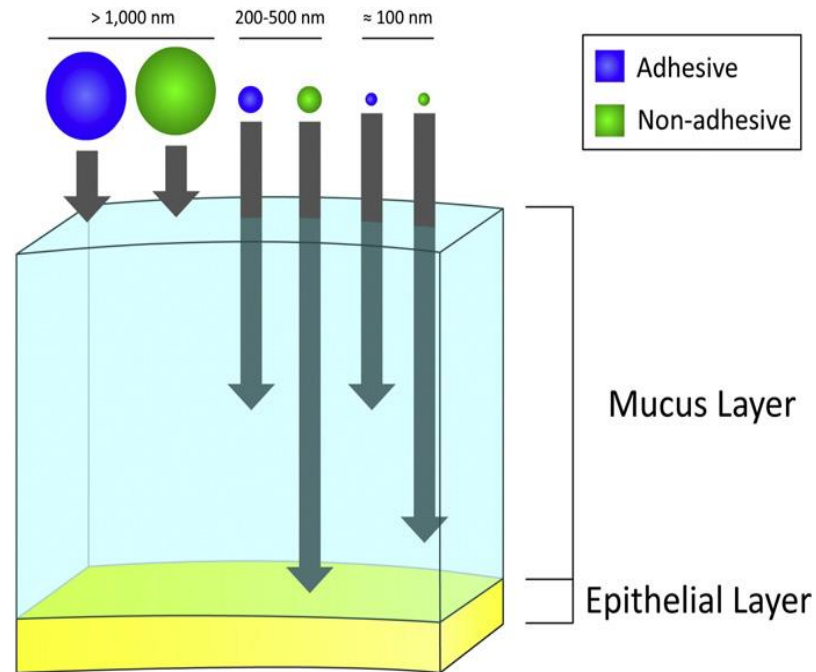


Introducción

La vagina Humana

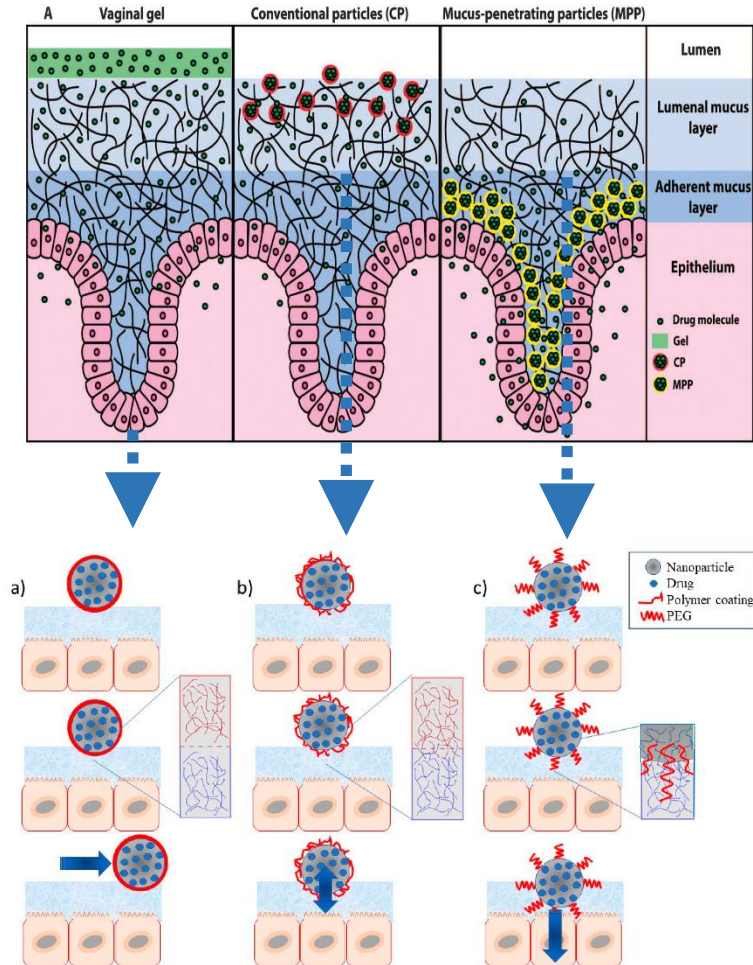


Tamaño de partícula



Das Neves, et al. (2015). *Adv Drug Deliv Rev.* 92, 53–70

Química superficial



Ensign L. M. et al. (2012). *Sci Transl Med* 4, 138ra79.

Leyva Gómez et al. (2018). *En t. J. Mol. Sci.* 19 (6), 1549

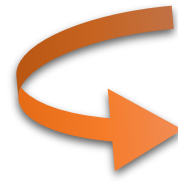
- Alta superficie de contacto
- Efecto local y sistémico

Justificación

En México*:

➤ 2017: 111,055 nuevos casos de vaginitis.

➤ 28,157 debido a candidiasis.



➤ La nanotecnología ayuda en los esquemas de tratamiento con una liberación prolongada y/o controlada de moléculas activas.

➤ Nanopartículas poliméricas de PLGA como una plataforma para la entrega vaginal de clotrimazol en el tratamiento de la vaginitis.

➤ Falta de métodos analíticos para determinar la cantidad de fármaco encapsulado en NPs.



➤ Desarrollo de un método de cuantificación de clotrimazol para determinar el porcentaje de este fármaco encapsulado en nanopartículas poliméricas de PLGA y quitosán.

Metodología y Resultados

Emulsificación – Difusión



Fase acuosa:
PVA 0.5% en agua saturada

Fase Orgánica: Acetato de etilo saturado, Fármaco (20 mg), PLGA (100 mg)

Saturación

Emulsificación



10 min



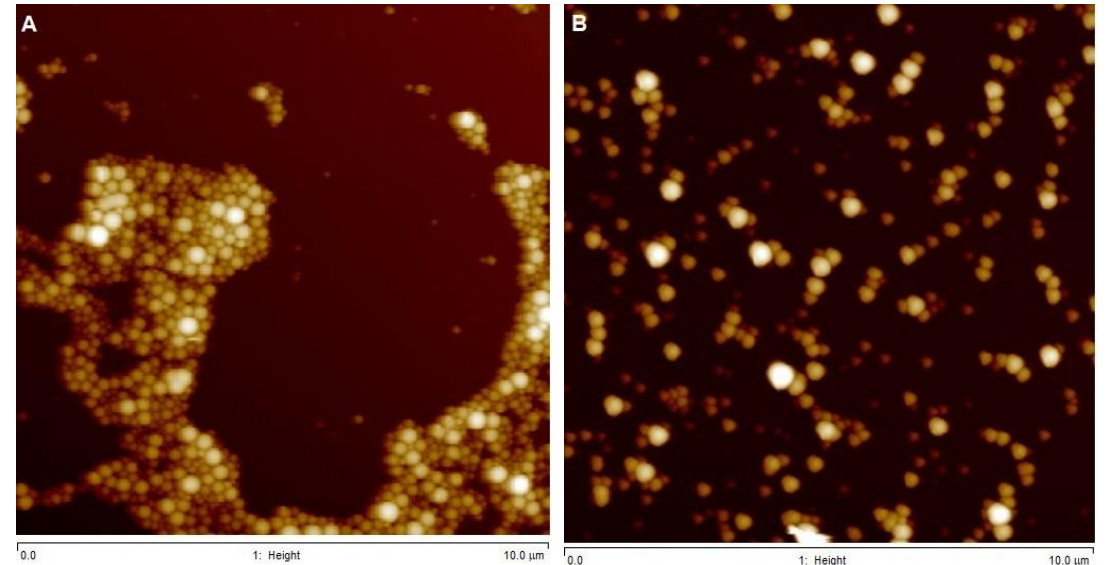
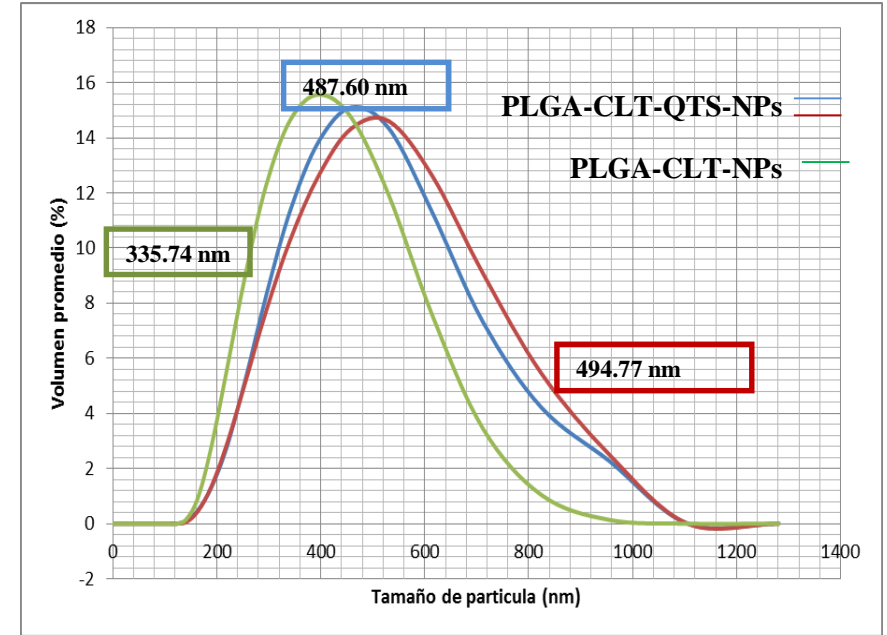
5 min

Evaporación

Ultracentrifugación

Liofilización

20 mL de PVA 0.1 %
(m/v)
+ 0.5 ml de ácido acético
concentrado
+
20 mg de quitosán

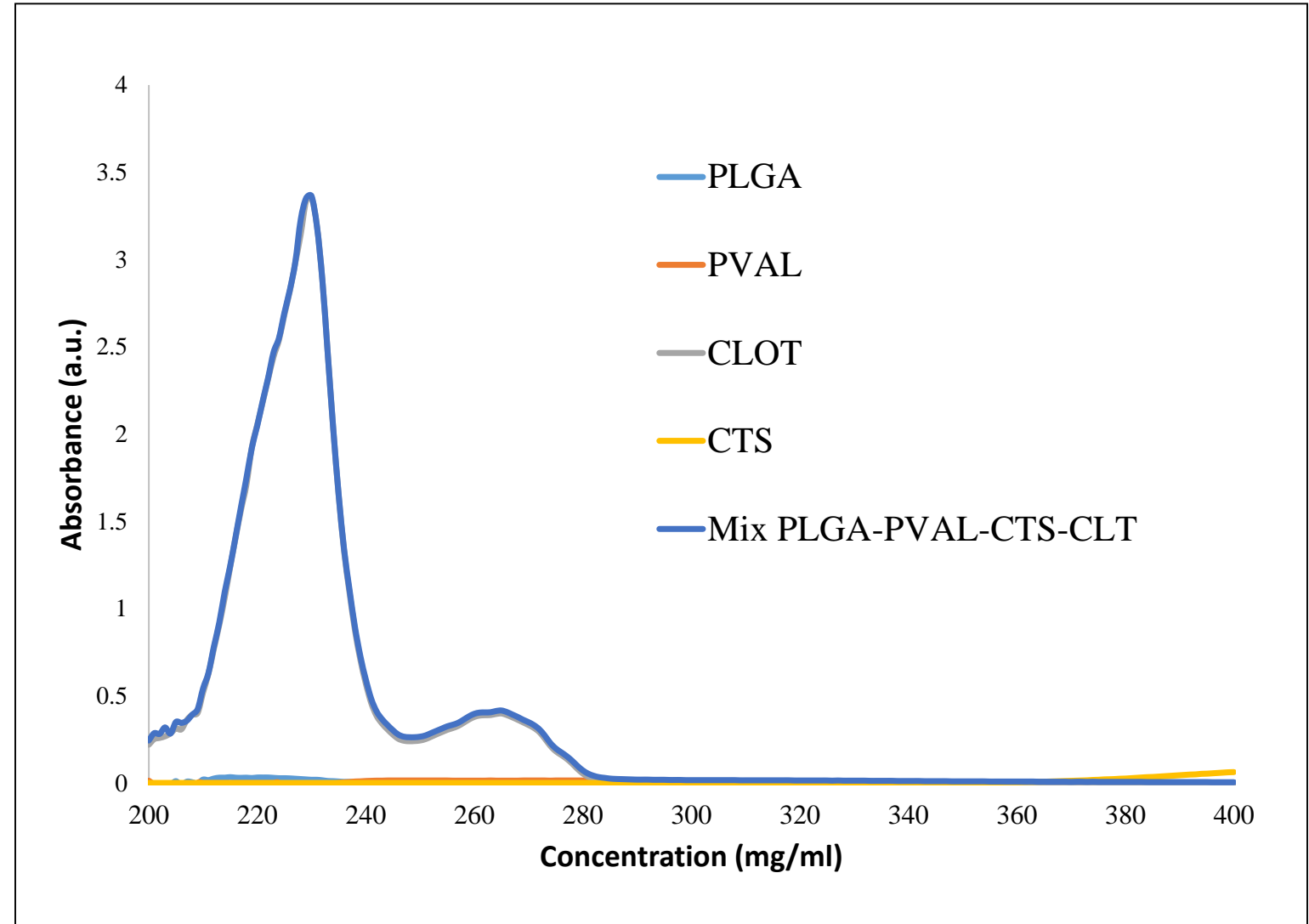


Micrografías de Fuerza Atómica. a) PLGA-CLT-NPs, B) PLGA-CLT-QTS-NPs

Metodología y Resultados

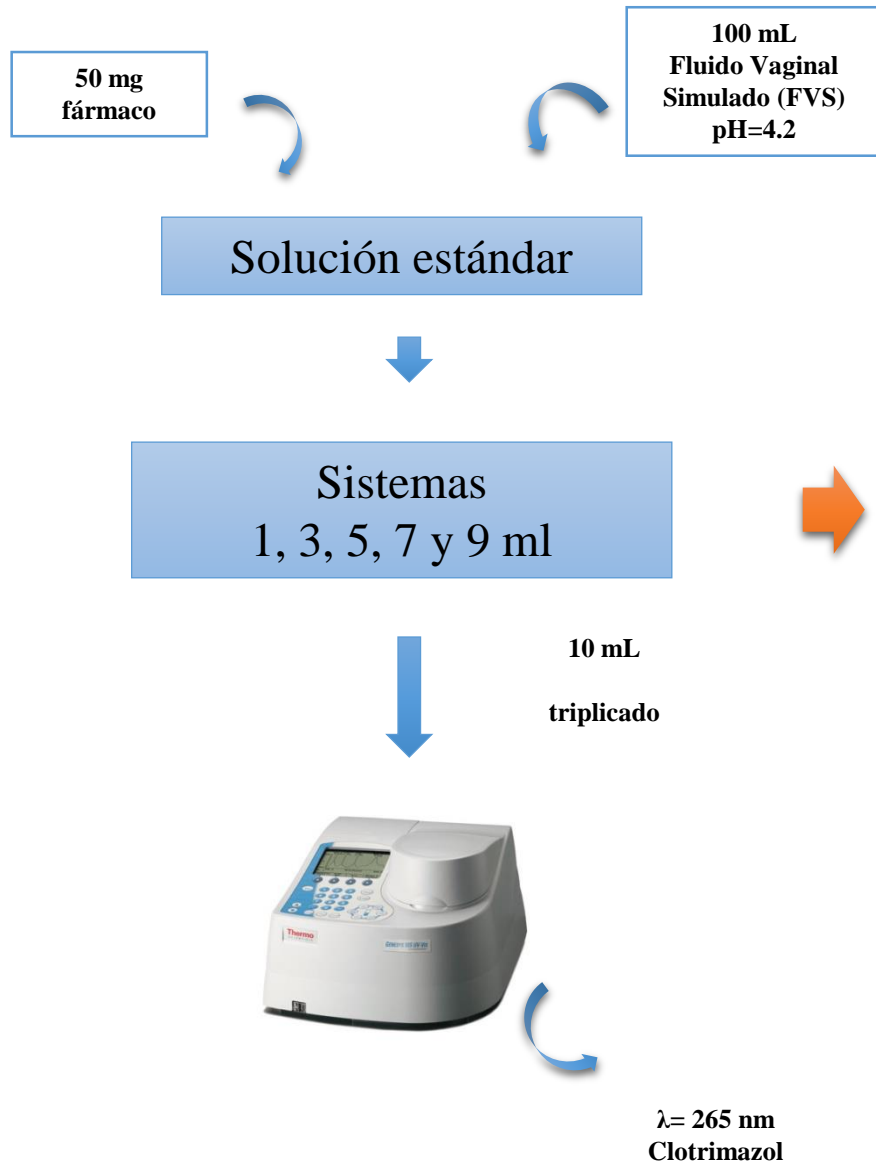
Validación parcial del método de cuantificación de fármaco a partir de nanopartículas de PLGA.

- **Especificidad.**
- Linealidad.
- Exactitud.
- Repetibilidad.
- Limite de cuantificación.
- Limite de detección.

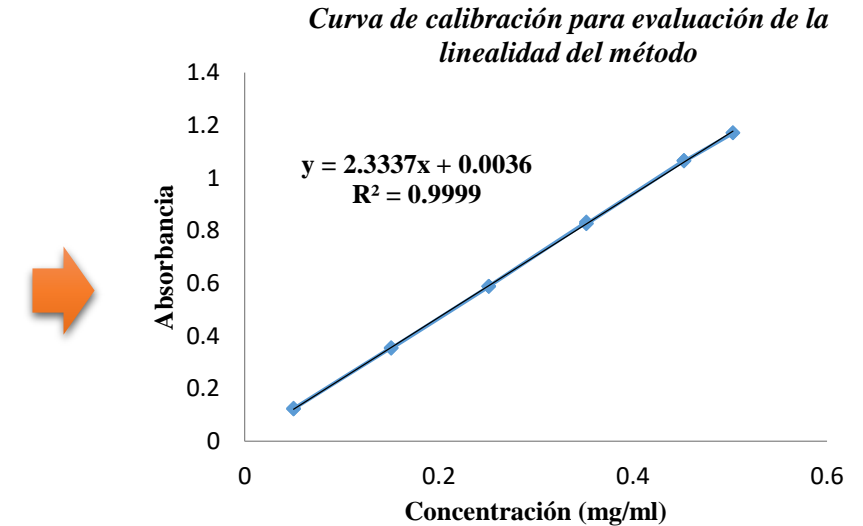


Metodología y Resultados

Linealidad



Concentración (mg/ml)	Absorbancia	Absorbancia/concentración
0.0503	0.125	2.48
0.0503	0.121	2.40
0.0503	0.123	2.44
0.1509	0.355	2.35
0.1509	0.353	2.33
0.1509	0.352	2.33
0.2515	0.587	2.33
0.2515	0.588	2.33
0.2515	0.588	2.33
0.3521	0.832	2.36
0.3521	0.826	2.34
0.3521	0.825	2.34
0.4527	1.066	2.35
0.4527	1.066	2.35
0.4527	1.063	2.34
0.5030	1.170	2.32
0.5030	1.172	2.33
	Promedio	2.36
	Desviación Estándar	0.044
	% C.V.	1.85



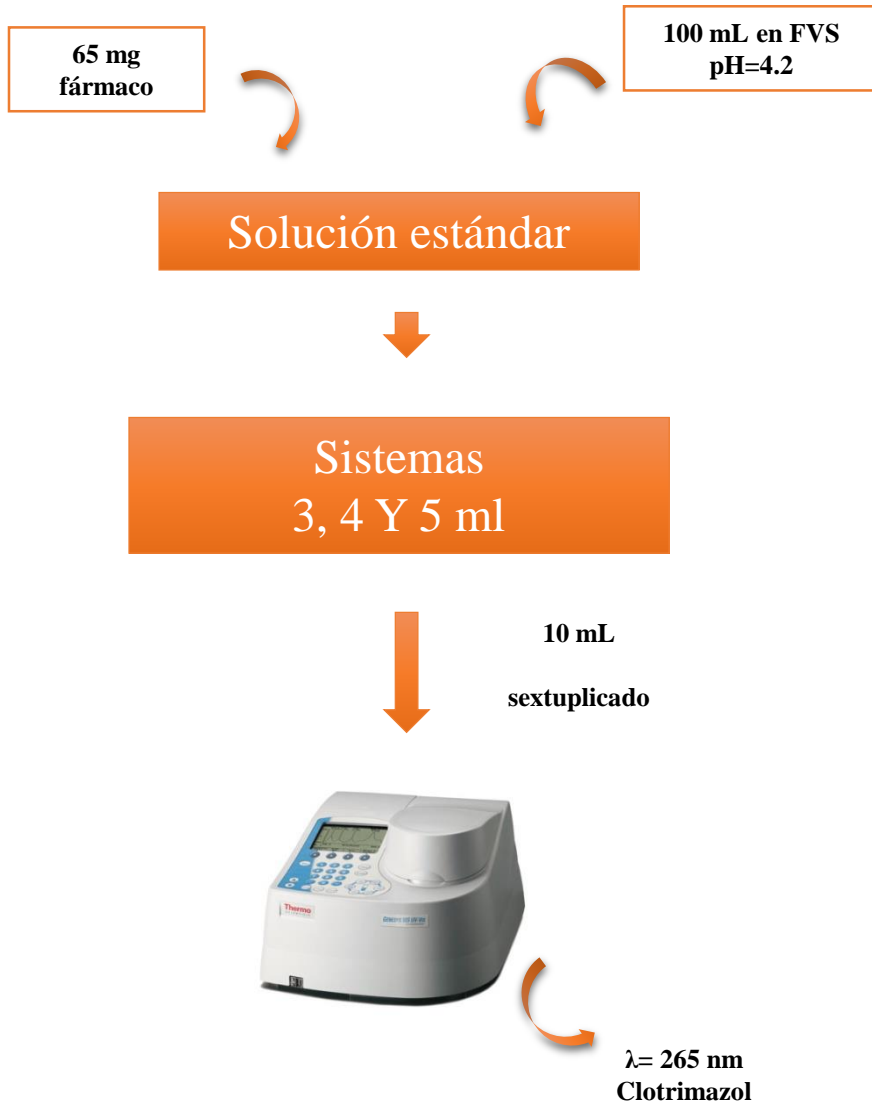
ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	2.26	2.26	122283.78	6
Residuos	15	0.0002	1.85E-05		9.37E-31
Total	16	2.26			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	t crítica
Intercepción	0.00356272	0.0021463	1.65993689	0.117682491
Variable X 1	2.33366824	0.00667352	349.690986	9.36922E-31

Metodología y Resultados

Exactitud



Concentración (mg/ml)	% Recobro
0.19	99.32
	99.99
	99.32
	99.77
	99.99
	98.87
0.25	98.78
	99.28
	99.12
	99.45
	99.12
	98.78
0.31	98.99
	98.73
	98.86
	98.99
	99.13
	98.99
Promedio	99.19
Desv Estándar	0.39
% C.V.	0.34

% Recobro (IC_{μ}) $100 \pm 3\%$, y
% C.V. $\leq 3\%$

$IC_{\mu} = 98.99 \text{ a } 99.39 \%$
y % C.V. = 0.34

>> Exacto

Metodología y Resultados

Repetibilidad

65 mg
fármaco

100 mL en FVS
pH=4.2

Solución estándar

Sistemas
3, 4 Y 5 ml

10 mL
triplicado
tres días



$\lambda = 265 \text{ nm}$
Clotrimazol

Día	Concentración (mg/ml)	% Recobro
1	0.1887	99.32
	0.1887	99.99
	0.1887	99.77
	0.2516	98.78
	0.2516	99.12
	0.2516	99.45
	0.3145	98.73
	0.3145	99.13
2	0.1866	101.65
	0.1866	101.89
	0.1866	102.37
	0.2488	101.26
	0.2488	100.21
	0.2488	100.35
	0.3110	100.61
	0.3110	100.19
3	0.1881	102.46
	0.1881	101.99
	0.1881	101.52
	0.2508	101.72
	0.2508	101.54
	0.2508	101.54
	0.3135	101.14
	0.3135	101.14
	0.3135	101.69
	Promedio	100.61
	Desv. Estand.	1.18

% Recobro (IC_{μ}) $100 \pm 3\%$, y
% C.V. $\leq 3\%$

$IC_{\mu} = 100.15$ a 101.08%
y **% C.V. = 0.34**

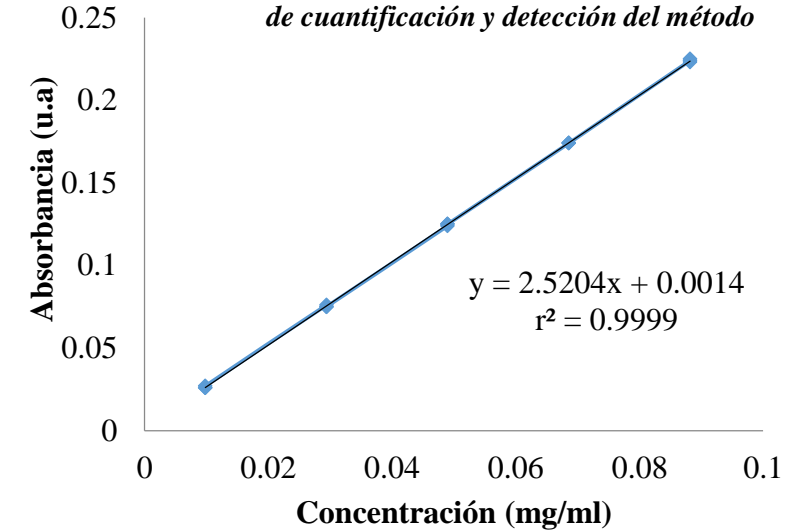
>> Repetible

Metodología y Resultados

Limite de cuantificación y detección



Curva de calibración para evaluación del límite de cuantificación y detección del método



ANÁLISIS DE VARIANZA						
	dl	S.S	M.S.	F	Sig.F.	
Regresión	1	7.3E-2	7.3E-2	19.29E4	1.67E-2	
Residual	13	4.93E-6	3.8E-07			
Total	14	7.3E-2				
	Coeff.	S. Error.	t Stat	P-value	Low. 95%	Upp. 95%
Intercepto (b_0)	1.3E-3	3.0E-3	4.2305	9.82E-3	7.0E-4	2.1E-3
Pendiente X1 (b_1)	2.52	5.8E-3	439.23	1.67E-28	2.51	2.53

LD= $\frac{3.3 \cdot s_{bo}}{m} = 5.42 \mu\text{g/ml}$
LC= $\frac{10 \cdot s_{bo}}{m} = 1.79 \mu\text{g/ml}$

Conclusiones

- ✓ Se desarrolló un método de cuantificación de CLT contenido en nanopartículas poliméricas.
- ✓ Además, el desarrollo del método de cuantificación nos permitió cuantificar la cantidad de CLT cargado en las nanopartículas poliméricas (PLGA-CLT-NPs y PLGA-CLT-CTS-NPs) con porcentajes de 72.48% y 85.64%, respectivamente.
- ✓ Finalmente, el método al ser espectrofotométrico es de fácil reproducción y de bajo costo, comparado con otros métodos analíticos como los cromatográficos.

Referencias

- Das Neves, et al. (2015). *Advance Drug Delivery Reviews*. 92, 53–70.
- Ensign L. M. et al. (2012). *Science Translational Medicine*. 4, 138ra79.
- Leyva Gómez et al. (2018). *International Journal of Molecular Sciences*. 19 (6), 1549.
- Mills B. B. (2017). Vaginitis: Beyond the Basics. *Obstetrics & Gynecology Clinics of North America*. 44, 159–177.
- Mendling W. (2012). Vulvovaginal Candidosis: Theory and Practice. *Springer Science & Business Media*. p171.
- Kreuter J. (2007). Nanoparticles – a historical perspective. *International Journal of Pharmaceutics*. 331, 1-10.
- Secretaría de Salud (SSA). (2017). Notificación semanal de casos nuevos de enfermedades 2017. Reporte correspondiente a febrero de 2017. Consultado el 18/05/2017.



ECORFAN®

© ECORFAN-Mexico, S.C.

No part of this document covered by the Federal Copyright Law may be reproduced, transmitted or used in any form or medium, whether graphic, electronic or mechanical, including but not limited to the following: Citations in articles and comments Bibliographical, compilation of radio or electronic journalistic data. For the effects of articles 13, 162,163 fraction I, 164 fraction I, 168, 169,209 fraction III and other relative of the Federal Law of Copyright. Violations: Be forced to prosecute under Mexican copyright law. The use of general descriptive names, registered names, trademarks, in this publication do not imply, uniformly in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protector in laws and regulations of Mexico and therefore free for General use of the international scientific community. BCIERMMI is part of the media of ECORFAN-Mexico, S.C., E: 94-443.F: 008- (www.ecorfan.org/booklets)