



**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

**Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica**

**Proyecto servicio social:**

**“Efecto antioxidante del ácido ascórbico y del butilhidroxitolueno (BHT) en ketoconazol contenido en dispersiones líquido-cristalinas”**

**Lugar de realización:** Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación

Controlada (N-106)

Periodo: 22/02/2024 al 27/08/2024

**Presenta:** Jennifer Sarabia Vera

**Matrícula:** 2193068032

**Asesores:**

Dr. Abraham Faustino Vega

QFB. Gustavo Rocha Ceballos

Ciudad de México, Octubre de 2024

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>4</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>8</b>
<b>1. RESUMEN</b>	<b>9</b>
ABSTRACT	10
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
3.1 Objetivo general	12
3.2 Objetivos específicos	12
<b>4. MARCO TEÓRICO</b>	<b>13</b>
4.1 Sistemas de administración de fármacos	13
4.2 Cristales líquidos	14
4.3 Clasificación de los cristales líquidos	15
4.4 Métodos de obtención de cristales líquidos	17
4.5 Ultrasonificación	17
4.6 Aplicaciones de los cristales líquidos	18
4.7 Ketoconazol	19
4.8 Oxidación	22
4.9 Antioxidantes	22
4.9.1 Ácido ascórbico	23
4.9.2 Butilhidroxitolueno (BHT)	24
4.10 Evaluación de efecto antioxidante	24
4.11 Prueba de estabilidad acelerada	25
4.12 Caracterización de cristales líquidos	26
4.12.1 Aspecto físico	26
4.12.2 Distribución de tamaño de partícula (DTP)	26
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>28</b>
5.1 Materiales	28
5.2 Método	28
5.2.1 Preparación de las dispersiones de cristales líquidos	28
5.2.2 Adición de antioxidantes	30
5.2.3 Ajuste de pH	31
5.2.4 Análisis estadístico	31
<b>6. RESULTADOS</b>	<b>32</b>
6.1 Propiedades físicas	32
6.2 Sonicación	34
6.2.1 Importancia de la sonicación en la obtención de cristales líquidos	34
6.2.2 Condiciones iniciales de sonicación para la obtención de cristales líquidos cargados con ketoconazol	36
6.2.3 Condiciones optimizadas de sonicación probadas en muestras de cristales líquidos placebo y muestras cargadas con ketoconazol	40

6.2.3.1 Muestras placebo de cristales líquidos	40
6.2.3.2 Muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol	41
6.2.4 Método para optimizar la sonicación y evitar la oxidación del ketoconazol contenido en las muestras de cristales líquidos	44
6.3 Optimización de la agitación aplicada en la fabricación de cristales líquidos	49
6.4 Estabilidad de las muestras de cristales líquidos, a partir del proceso de sonicación y agitación optimizados	51
6.5 Diseño experimental	55
6.6 Ajuste de pH de cristales líquidos cargados con ketoconazol y antioxidante	69
6.7 Prueba de estabilidad	71
<b>7. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>95</b>
<b>8. CONCLUSIÓN</b>	<b>101</b>
<b>9. REFERENCIAS</b>	<b>102</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

- **Tabla 1.** Cantidad de cada componente para la formulación de cristales líquidos
- **Tabla 2.** Cantidad de antioxidante requerida para cada concentración de las muestras de cristales líquidos
- **Tabla 3.** Aspecto físico de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol, tanto una muestra visiblemente sin oxidación (a), como una muestra visiblemente oxidada (b). Además de los resultados de distribución de tamaño de partículas de la muestra no oxidada
- **Tabla 4.** Contraste entre una muestra de cristales líquidos placebo sometida a sonicación y una muestra placebo no sonicada, comparando su distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 5.** Condiciones de sonicación experimentales para determinar las de mejores resultados, a partir de las condiciones de sonicación establecidas en el método inicial, basándose en la distribución de tamaño de partícula (DTP) y el aspecto físico (color) de las muestras de cristales líquidos con ketoconazol (KTZ) y una muestra placebo
- **Tabla 6.** Resultados del triplicado de la muestra de cristales líquidos placebo formulada bajo las condiciones de sonicación establecidas, en función de la distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 7.** Resultados del triplicado de la muestra de cristales líquidos cargados con ketoconazol formulada bajo las condiciones de sonicación establecidas, en función de la distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 8.** Aspecto físico (color) de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol en su primer día de fabricación y cinco días después
- **Tabla 9.** Muestras de cristales líquidos cargadas con ketoconazol sometidas a sonicación a diferentes condiciones, las cuales son, a temperatura ambiente (20 °C- 25 °C) y en un baño de hielo (0 °C), los resultados se determinaron en cuanto al incremento de temperatura entre cada ciclo de sonicación y su distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 10.** Aspecto físico (color) de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol sometidas a una sonicación a temperatura ambiente (20 °C- 25

°C) y en un baño de hielo (0 °C), con respecto a su primer día de fabricación y cinco días después

- **Tabla 11.** Halo de micropartículas negras presente en la muestra de cristales líquidos cargada con ketoconazol sonicadas en baño de hielo
- **Tabla 12.** Sedimento presente en la muestra de cristales líquidos cargados con ketoconazol sonicada a temperatura ambiente
- **Tabla 13.** Resultados del comportamiento de las muestras de cristales líquidos placebo y muestras cargadas con ketoconazol sometidas a una agitación constante a 500 rpm durante diez horas y posteriormente sonicadas con dos ciclos, visualizando los resultados en función a su distribución de tamaño de partícula (DTP) y en su aspecto físico (presencia o no de sedimento en el fondo del frasco)
- **Tabla 14.** Resultados de la distribución de tamaño de partícula (DTP) obtenidos a partir de la prueba de estabilidad de muestras placebo, sometidas a una agitación constante durante diez horas a 500 rpm, y dos diferentes condiciones de sonicación, a temperatura ambiente (20 °C- 25 °C) y con baño de hielo (0 °C)
- **Tabla 15.** Resultados de la distribución de tamaño de partícula (DTP) obtenidos a partir de la prueba de estabilidad de muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol, sometidas a una agitación constante durante diez horas a 500 rpm, y dos diferentes condiciones de sonicación, a temperatura ambiente (20 °C- 25 °C) y con baño de hielo (0 °C)
- **Tabla 16.** Variables de estudio consideradas en el diseño experimental diseñado para la optimización del proceso de elaboración de cristales líquidos cargados con ketoconazol y una combinación de los antioxidantes butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico, además, de las variables de respuesta a considerar para evaluar el comportamiento de las muestras
- **Tabla 17.** Diseño experimental con la combinación de las variables, concentración de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico), horas de agitación y ciclos de sonicación para la obtención aleatoria de cristales líquidos cargados con ketoconazol
- **Tabla 18.** Resultados obtenidos a partir del diseño experimental, evaluando la

distribución de tamaño de partícula (DTP) de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol y antioxidante, observando su comportamiento durante veinte días

- **Tabla 19.** Resultados obtenidos a partir del diseño experimental, evaluando el matiz de color de una de las muestras de cada triplicado, ya sea, rosa (muestra oxidada), o blanco-azulado (muestra no oxidada) y la presencia o no de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que almacena la muestra, observando su comportamiento durante veinte días
- **Tabla 20.** Determinación de pH de muestras de cristales líquidos placebo, muestras cargadas con ketoconazol sin antioxidantes y muestras cargadas con ketoconazol con una combinación de antioxidantes (butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico) a una concentración del 1 % y del 3%
- **Tabla 21.** Volumen de solución amortiguadora (SA) que requirió cada muestra de cristales líquidos, de acuerdo al tipo de antioxidante y concentración utilizados, para ajustar su valor de pH a 7.00
- **Tabla 22.** Características de las muestras de cristales líquidos sometidas a la prueba de estabilidad y las condiciones utilizadas
- **Tabla 23.** Análisis del comportamiento de las muestras de cristales líquidos con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 24.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después
- **Tabla 25.** Análisis del comportamiento de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 1 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 26.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con el antioxidante

butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 1 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después

- **Tabla 27.** Análisis del comportamiento de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 28.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después
- **Tabla 29.** Análisis del comportamiento de las muestras con el antioxidante ácido ascórbico a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP)
- **Tabla 30.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con el antioxidante ácido ascórbico a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después
- **Tabla 31.** Condiciones y parámetros requeridos para realizar la curva de calibración para la prueba de DPPH
- **Tabla 32.** Resultados obtenidos en el espectrofotómetro a partir de la curva de DPPH, así como los porcentajes de inhibición de cada punto de la curva
- **Tabla 33.** Curva de calibración creada a partir del punto con la concentración de 1500  $\mu\text{L}$ , con una absorbencia de 0.806, además del porcentaje de inhibición de cada punto

## ÍNDICE DE FIGURAS

- **Figura 1.** Orden de orientación de las moléculas de un cristal líquido
- **Figura 2.** Estructura de las fases de los cristales líquidos termotrópicos, nemática y esméctica
- **Figura 3.** Estructura de las fases de los cristales líquidos liotrópicos
- **Figura 4.** Ruta de síntesis del ergosterol y la participación del ketoconazol en la interrupción del proceso al interactuar con la enzima 14- $\alpha$ -desmetilasa
- **Figura 5.** Estructura química del ketoconazol
- **Figura 6.** Producto de la molécula de ketoconazol al presentar degradación oxidativa
- **Figura 7.** Estructura química del ácido ascórbico
- **Figura 8.** Estructura química del butilhidroxitolueno (BHT)

## 1. RESUMEN

Los cristales líquidos (CL) son sistemas que proporcionan ventajas, como estabilidad termodinámica, niveles altos de solubilización, mejor biodisponibilidad y protección contra la oxidación, que los convierte en una nueva clase de sistema de administración para fármacos inestables al utilizarlos en distintas formulaciones. Un ejemplo de estos fármacos es, el ketoconazol, uno de los fármacos más utilizados para tratar distintos tipos de micosis, el cual se caracteriza por ser susceptible a la fotodegradación y degradación oxidativa, lo cual puede provocar que pierda su eficacia terapéutica. Por lo que, el objetivo de este proyecto fue incorporar dos antioxidantes en combinación y por separado al sistema de cristales líquidos, los cuales están cargados con ketoconazol, esperando evitar la reacción de oxidación que sufre este fármaco.

Se prepararon muestras de cristales líquidos a las que se les incorporaron los antioxidantes butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico, que se probaron a dos diferentes concentraciones, para posteriormente, realizar una prueba de estabilidad, la cual consistió en someter las muestras a tres diferentes temperaturas, ambiente (20- 25 °C), refrigeración (2- 2.3 °C) y en estufa (40 °C), tal prueba tuvo una duración de un mes, tiempo durante el cual las muestras fueron observadas y analizadas con respecto a su aspecto físico (color), su distribución de tamaño de partícula (DTP) y su pH.

Los resultados obtenidos en esta investigación, demuestran que el método optimizado es eficaz para la obtención de cristales líquidos con ketoconazol con las características deseadas como, un color blanco-azulado y una distribución de tamaño de partícula dentro de un intervalo de 80- 100 nm, además, durante la prueba de estabilidad aplicada para identificar al antioxidante más eficaz, resultó en que el antioxidante BHT a una concentración del 1 % a un pH de 7.00, mantiene estables las características fisicoquímicas antes mencionadas de los cristales líquidos cargados con ketoconazol, como pH, tamaño de partícula y aspecto físico (color), el cual además se relaciona a la eficaz protección de la muestra contra la oxidación que sufre el fármaco por su fotosensibilidad.

**Palabras clave:** cristales líquidos, ketoconazol, antioxidante, Butilhidroxitolueno (BHT), ácido ascórbico.

## ABSTRACT

Liquid crystals (LC) are systems that provide advantages such as thermodynamic stability, high levels of solubilization, improved bioavailability and protection against oxidation, making them a new class of delivery system for unstable drugs when used in different formulations. An example of these drugs is ketoconazole, one of the most widely used drugs to treat different types of mycoses, which is characterized by photodegradation and oxidative degradation, which can cause it to lose its therapeutic efficacy. Therefore, the objective of this project was to incorporate two antioxidants in combination and separately to the liquid crystal system, which are loaded with ketoconazole, hoping to prevent the oxidation reaction that this drug undergoes. Liquid crystal samples were prepared to which the antioxidants butylhydroxytoluene (BHT) and ascorbic acid were incorporated, which were tested at two different concentrations, to subsequently perform a stability test, which consisted of subjecting the samples to three different temperatures, room (20- 25 °C), refrigeration (2- 2.3 °C) and in an oven (40 °C). This test lasted one month, during which time the samples were observed and analyzed with respect to their physical appearance (color), their particle size distribution (PSD) and their pH. The results obtained in this research demonstrate that the optimized method is effective for obtaining liquid crystals with ketoconazole with the desired characteristics such as a bluish-white color and a particle size distribution within a range of 80- 100 nm. In addition, during the stability test applied to identify the most effective antioxidant, it resulted that the antioxidant BHT at a concentration of 1 % at a pH of 7.00, maintains stable the aforementioned physicochemical characteristics of liquid crystals loaded with ketoconazole, such as pH, particle size and physical appearance (color), which is also related to the effective protection of the sample against oxidation suffered by the drug due to its photosensitivity.

**Keywords:** liquid crystals, ketoconazole, antioxidant, butylhydroxytoluene (BHT), ascorbic acid.

## 1. INTRODUCCIÓN

La administración de fármacos ha avanzado en los últimos años, por lo que, los nuevos sistemas de administración son métodos innovadores utilizados para transportar a los fármacos al interior o a través del organismo, mejorando sus características y buscando que actúen únicamente sobre su objetivo, además de que no pierdan su eficacia, seguridad y calidad, es por ello que los cristales líquidos son un ejemplo de estos sistemas innovadores, ya que son capaces de proporcionar ventajas como, estabilidad termodinámica, niveles altos de solubilización, mejor biodisponibilidad, propiedades de liberación controlada de los agentes activos, además, que proporcionan protección contra la hidrólisis y la oxidación, convirtiéndolos en una nueva clase de sistema de administración de fármacos que son sensibles a estas reacciones (Shoaib, 2021). Además de ser sistemas fáciles de obtener, por medio de alguna de las dos técnicas disponibles, como son, la aproximación descendente (top down), el cual requiere energía para dispersar un material en una disolución acuosa por homogeneización y ultrasonificación. Mientras que la otra técnica, conocida como aproximación ascendente (bottom up), requiere menor energía por la presencia de hidrótrofos, los cuales aceleran la solubilización de los lípidos insolubles (Shoaib, 2021).

Un ejemplo de estos fármacos propensos, es el ketoconazol, el cual es uno de los fármacos más utilizados como antimicótico, sin embargo, un inconveniente que se tiene al incluirlo en formulaciones es que es una molécula susceptible a sufrir fotodegradación y degradación oxidativa por la formación de N-óxido en su anillo de piperazina, además, esta oxidación es visiblemente notable, ya que la muestra se torna de una coloración rosada. No obstante, esta condición puede evitarse al proteger a la muestra con ayuda de un antioxidante adecuado, ya que, de lo contrario, puede perder eficacia terapéutica al cabo de unos días (Bala, 2021).

Con base en lo anterior, en esta investigación se busca incluir el ketoconazol en un sistema de cristales líquidos y protegerlo de la oxidación con la inclusión de antioxidantes en la formulación, tales como, el butilhidroxitolueno (BHT) y el ácido ascórbico, los cuales se adicionan de manera independiente y en combinación, con el objetivo de evaluar mediante una prueba de estabilidad su capacidad antioxidante y determinar al que brinde los mejores resultados.

## **2. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto antioxidante del ácido ascórbico y del butilhidroxitolueno (BHT) en la estabilidad fisicoquímica del ketoconazol incluido en fases líquido-cristalinas.

### **3.2 Objetivos específicos**

1. Elaborar las dispersiones líquido-cristalinas mediante el método ya establecido en el laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada (N- 106).
2. Optimizar las formulaciones de las dispersiones líquido-cristalinas para determinar el tiempo y energía de sonicación apropiados para obtener.
3. Evaluar la capacidad antioxidante de BHT y ácido ascórbico mediante el método del radical libre DPPH.
4. Incorporar BHT y ácido ascórbico de manera independiente y en combinación en las dispersiones para evaluar cuál de ellos proporciona mayor estabilidad al ketoconazol incluido en dichas dispersiones.
5. Evaluar la efectividad de los antioxidantes mediante un estudio de estabilidad acelerada de acuerdo con la NOM 073.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 Sistemas de administración de fármacos

La administración de fármacos ha avanzado en los últimos años, por lo que, los nuevos sistemas de administración son métodos innovadores utilizados para transportar a los fármacos al interior o a través del organismo de manera más efectiva, ya que, dependiendo del tipo de sistema, pueden proteger al fármaco de la degradación, evitar que actúen de manera sistémica para que no afecten a todo el cuerpo y así permitir que aceleren la llegada hasta su órgano diana, también para reducir los efectos secundarios, e incluso, maximizar el impacto del tratamiento. Volviéndose su principal objetivo superar los obstáculos más comunes que pueden presentar los fármacos, por ejemplo, la baja solubilidad en agua, el alto peso molecular de las proteínas y péptidos terapéuticos y la dificultad de lograr una liberación dirigida y controlada del fármaco (Ezike et al., 2023).

Ejemplos de estos métodos utilizados como estrategias de formulación para enfrentar los obstáculos que presentan algunos fármacos, se incluyen, la reducción de tamaño de partícula, la adición de tensoactivos, los sistemas de administración de fármacos basados en lípidos y los nanofármacos, otro tipo de sistema que puede utilizarse como vehículo son los cristales líquidos (CL), ya que, son utilizados para mejorar la biodisponibilidad, estabilidad y solubilidad de fármacos pocos solubles, además, no son tóxicos, fáciles de manipular y pueden trabajar con moléculas tanto hidrofílicas como hidrofóbicas, lo que los vuelve de gran interés al momento de formular (Bala et al., 2021).

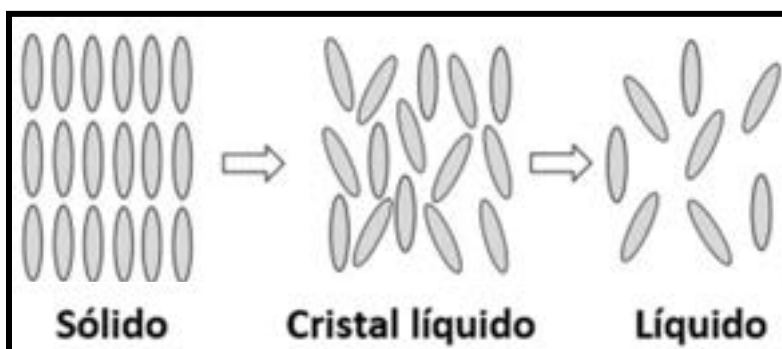
En esta investigación se utilizan los cristales líquidos como el sistema innovador para almacenar un fármaco y estabilizarlo.

## 4.2 Cristales líquidos

Un cristal líquido (CL) es considerado como un estado de la materia, ya que, en 1888, el botánico austriaco Friedrich Reinitzer observó que el benzoato de colesterol, un material con el que trabajaba, tenía dos puntos de fusión distintos, además, en sus experimentos notó que al aumentar la temperatura de una muestra sólida, esta se transformaba en un líquido turbio y a medida que seguía aumentando la temperatura, el material volvía a convertirse en un líquido claro y transparente, dando lugar al descubrimiento del estado cristal líquido (Fernández, 2023).

Los cristales líquidos son materiales termodinámicamente estables, intermedios entre los estados líquido y sólido, ya que, presentan la caracterización mecánica de un líquido (fluidez) y la caracterización óptica de un cristal sólido (anisotropía óptica) (Shoaib, 2021). Se caracterizan por tener una apariencia ligeramente transparente, con un color blanco-azulado, además, se consideran como un estado mesomórfico, es decir, sus moléculas no están tan ordenadas como las de un sólido, y tienen un cierto grado de ausencia de orden como las de un líquido (Chavda, 2022). A continuación, en la figura 1, se puede observar el orden de las moléculas de un cristal líquido.

**Figura 1.** Orden de orientación de las moléculas de un cristal líquido.



NOTA. Se observa que en el estado sólido, las moléculas están muy ordenadas, mientras que en el estado líquido, no tienen ningún orden específico, por lo que las moléculas en cristal líquido se encuentran entre las características del estado sólido y el líquido. Imagen tomada de (Fernández, 2023).

Estas propiedades que los ubican como mesofases, van a ser parte de una clasificación, la cual se determina en función del proceso de su obtención, ya sea en termotrópicos o liotrópicos.

### 4.3 Clasificación de los cristales líquidos

Los cristales líquidos se van a clasificar en dos grupos, termotrópicos, que si lo analizamos, la palabra termotrópica proviene del griego *thérme*, calor, y *tropé*, cambio, es decir, las moléculas cambian de forma debido a la temperatura y se forman al calentar sólidos a una temperatura característica para cada sustancia, ya que a otra temperatura mayor, desaparece el orden a nivel molecular y el sistema presenta características de un líquido ordinario; existen dos tipos principales de los cristales líquidos termotrópicos, los cuales son, esmécticos, estos se dan conforme la temperatura comienza a incrementar, por lo que existe un arreglo de tipo laminar, así como un movimiento traslacional y rotacional de las moléculas, por otro lado se encuentran los de tipo nemáticos, los cuales se dan al incrementar aún más la temperatura, provocando que las moléculas se difundan hacia afuera de la estructura inicial y opten un aforma tipo enrejado, así hasta llegar a la temperatura más alta en la que se transforman en un líquido, a continuación en la figura 2, se pueden observar estos comportamientos de los cristales líquidos termotrópicos (Nalone et al., 2020).

**Figura 2.** Estructura de las fases de los cristales líquidos termotrópicos, nemática y esméctica

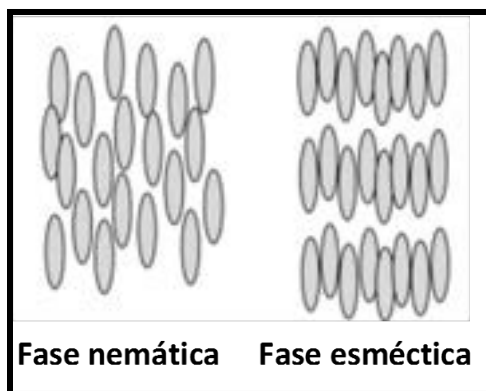


Imagen tomada de (Nalone et al., 2020).

Mientras que el otro grupo de la clasificación son los cristales líquidos liotrópicos, donde el término liotrópico proviene de “*lyo*” que significa “solvente” y “*trópico*” que significa “cambio”, por lo que, estos están en función de la concentración del material y se van a formar mediante la formación de micelas con la ayuda de un agente tensoactivo (Shoaib, 2021).

Los cristales líquidos liotrópicos son los más utilizados en formulaciones tanto farmacéuticas como cosméticas, se clasifican además en, las fases laminares ( $L\alpha$ ), que son bicapas de moléculas de una sustancia anfifílica separadas entre sí por capas de agua; fases hexagonales, de la cual existen dos tipos, la hexagonal normal ( $H_I$ ), la cual está constituida por micelas cilíndricas dispuestas en un retículo bidimensional hexagonal y el agua forma una fase continua que llena el espacio entre los cilindros; y la otra fase, la hexagonal inversa ( $H_{II}$ ), que posee núcleos de agua rodeados por los grupos polares de las moléculas o iones de las sustancias anfifílicas; y por último, fases cúbicas (Q), las cuales poseen una viscosidad muy elevada y tienen una mayor capacidad de carga de fármaco, sin embargo, debido a la prevalencia de agua, no puede integrar fármacos altamente solubles en agua (Chavda, 2022). En la figura 3, se muestra la estructura de las fases de los cristales líquidos liotrópicos.

**Figura 3.** Estructura de las fases de los cristales líquidos liotrópicos.

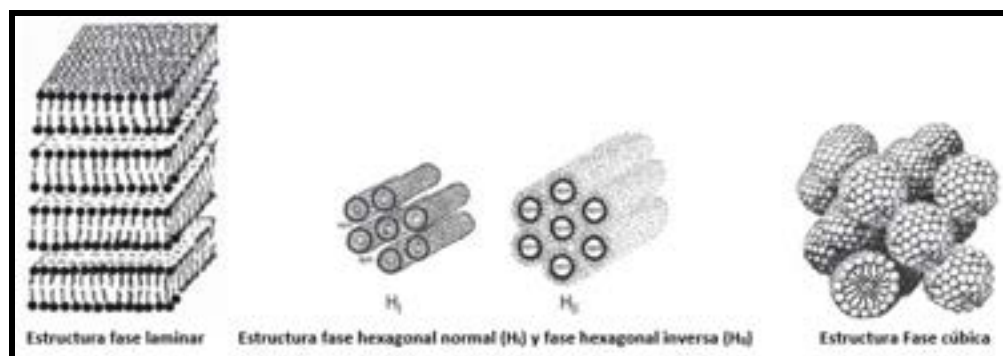


Imagen tomada de (Chavda, 2022).

Por lo que, una forma de obtener un sistema de cristales líquidos termotrópicos donde las moléculas cambian de forma debido a la temperatura; es calentando la forma sólida cristalina de una sustancia específica para transformarla en su forma cristalina líquida (PCC, 2023). Por otro lado, para obtener un sistema de cristales líquidos liotrópicos, se requiere disolver moléculas que se sabe que existen en fases de cristal líquido en un disolvente adecuado, dado que estos están en función de la concentración del material y se van a formar mediante la formación de micelas, para el cual se requiere la ayuda de un agente tensoactivo (Shoaib, 2021).

De acuerdo con (Chavda, 2022), existen dos métodos establecidos por los cuales se pueden obtener estos sistemas de cristales líquidos.

#### **4.4 Métodos de obtención de cristales líquidos**

Para estos sistemas se pueden aplicar dos técnicas de obtención, la primera, llamada aproximación descendente (top down), la cual, consiste en hidratar la mezcla de los lípidos que forman la estructura y los estabilizantes, para de esta manera permitir el autoensamblado en un material viscoso, y por último, este material es dispersado en una disolución acuosa por homogeneización y ultrasonificación, esta última es la que permite la obtención de un sistema con un tamaño de partícula pequeño, para la administración de medicamentos, las nanopartículas de cristal líquido suelen tener un tamaño de alrededor de 80- 100 nanómetros (Kim et al., 2016), lo cual permite una velocidad alta de disolución y mayor biodisponibilidad, eficaz al formular con fármacos poco solubles. Mientras que, la otra técnica conocida como aproximación ascendente (bottom up), requiere energía baja, además de la presencia de un hidrófobo para que al adicionar un medio acuoso al sistema, los lípidos insolubles en agua presentes reduzcan esa característica y se disuelvan más rápido (Chavda, 2022).

Además, como ya se mencionó el tamaño de partícula es importante para obtener cristales líquidos funcionales, y dicho tamaño se logra obtener cuando se le aplica ultrasonificación a la muestra.

#### **4.5 Ultrasonificación**

En los últimos años, la ultrasonificación ha sido relevante por su capacidad de mejorar la morfología y la forma de cristales, así como regular el tamaño de las partículas y la distribución de los productos cristalinos, dado que estos suelen presentar inconvenientes como bajo rendimiento, aglomeración de cristales, tamaño de partícula desigual y desviación significativa del tamaño esperado. El ultrasonido es una onda de presión sonora oscilante, la cual se encuentra dentro de un intervalo de frecuencia de 15 kHz- 10 MHz, cuando este se aplica a través de un sistema líquido, los cambios de presión pueden provocar beneficios como reducir el tamaño de las partículas, sin

embargo, debido al aumento de la energía ultrasónica, se puede ocasionar corrosión o desgaste del equipo ultrasónico, además, de causar efectos térmicos y aumentar la temperatura de la muestra sometida a este proceso. Por lo que, es indispensable identificar las condiciones óptimas para realizar este proceso sin ocasionar pérdida de la estabilidad de las muestras, estos parámetros se pueden determinar mediante el conocimiento de la relación entre el diseño del reactor ultrasónico, el tipo de muestra a realizar y el tamaño de partícula deseado (Xiang et al., 2024).

Esta tecnología depende de tres parámetros principales, que se convierten en los parámetros más críticos que deben controlarse durante el proceso, los cuales son, el tiempo de ultrasonificación, es decir, el tiempo de duración de cada ciclo, así como el número de estos aplicados, otro parámetro es la amplitud, la cual es altura máxima de una onda, haciendo referencia a la intensidad del sonido y por último, la potencia (o energía), que es la cantidad de energía transferida por la vibración, la cual se mide en Watts (W) (Nugroho et al., 2023).

Al ejecutar de manera correcta el proceso de obtención de cristales líquidos y comprender la importancia de conocer el fin para el que serán utilizados, con el objetivo de determinar los parámetros correctos, es necesario conocer el contexto en los que estos pueden ser de utilidad en la industria.

#### **4.6 Aplicaciones de los cristales líquidos**

Estos sistemas al proporcionar ventajas como, estabilidad termodinámica, altos niveles de solubilización, biodisponibilidad mejorada, propiedades de liberación controlada y proporcionar protección contra la hidrólisis y la oxidación, son utilizados en la industria como una nueva alternativa para administrar fármacos (Shoaib, 2021).

Dado que la baja solubilidad de muchos fármacos es una de las principales problemáticas que se presentan, ya que influye en su biodisponibilidad y por lo tanto en la eficacia de su efecto, en ocasiones como solución a esta problemática es necesario aumentar la dosis para lograr el efecto terapéutico deseado, lo que puede provocar un incremento en la toxicidad y en los efectos secundarios en el paciente (UCM, 2020);

por lo que, una manera de evitar esto es utilizar a los cristales líquidos como una posible solución debido a que son estructuras que permiten encapsular y transportar fármacos con baja solubilidad, volviéndose alternativas necesarias para asegurar la seguridad del paciente. De acuerdo con lo anterior, algunos ejemplos de fármacos que pueden ser incluidos en dispersiones líquido-cristalinas, son principalmente aquellos pertenecientes a la clasificación II del sistema de clasificación biofarmacéutica, ya que, son reconocidos por sus propiedades de gran permeabilidad pero con una solubilidad baja, además, se pueden incluir a aquellos que además pueden ser susceptibles a la degradación por otros factores, como, la temperatura, la luz o el pH; un ejemplo de estos fármacos son el diazepam, fenobarbital, ketoconazol, etc (ILAPHAR, 2020).

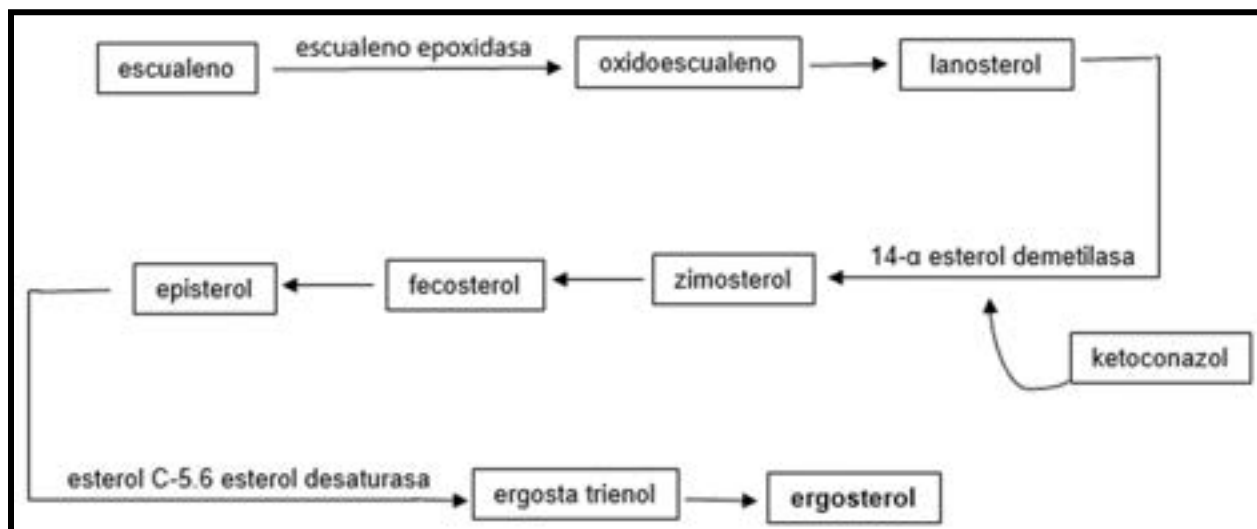
El ketoconazol es uno de los fármacos más utilizados en la industria, gracias a que su actividad antimicótica es utilizada para el tratamiento de enfermedades infecciosas producidas por hongos, las cuales son muy frecuentes en la población y afectan a la piel o las mucosas, según una revisión de enero de 2024, se estima que 6.5 millones de personas se ven afectadas por infecciones fúngicas invasivas cada año (Denning, 2024).

#### **4.7 Ketoconazol**

El ketoconazol es un fármaco antifúngico imidazólico, actualmente es el único miembro de los imidazoles que se utiliza para el tratamiento de infecciones sistémicas, es un fármaco que provoca la detención del crecimiento de las células fúngicas ya que impide el crecimiento y la propagación del hongo por todo el cuerpo. Su mecanismo de acción es inhibir la síntesis de ergosterol al interaccionar con una enzima, del citocromo P450, llamada 14- $\alpha$ -desmetilasa, cuya función es convertir lanosterol a ergosterol, afectando así a la estructura y viabilidad de la membrana afectando así a el crecimiento del hongo ya que es un componente esencial de este (AEPED, 2015).

En la figura 4 se puede apreciar la ruta de síntesis del ergosterol y en donde el ketoconazol actúa para impedir este proceso ejerciendo su actividad antimicótica.

**Figura 4.** Ruta de síntesis del ergosterol y la participación del ketoconazol en la interrupción del proceso al interaccionar con la enzima 14- $\alpha$ -desmetilasa.



Elaboración propia adaptada de la fuente (Santiago A., 2014).

El ketoconazol además, es un polvo blanco, prácticamente insoluble en agua (0.01 mg/mL), soluble en metanol (2.88 mg/mL), tiene un punto de fusión de 146- 147 °C, tiene una masa molecular de 531.44 g/mol, tiende a ser más estable a un valor de pH dentro de un intervalo de 6- 7 (Skiba et al., 2000), su fórmula química es  $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ , en su estructura presenta grupos aromáticos, de los cuales dos son grupos básicos y responsables de sus valores de pka, estos son, la piperazina y un anillo imidazol con un pka de 2.94 y de 6.51 respectivamente, además de un logP de 4.3, por lo que, es difícil de solubilizar en medio acuoso, principalmente en medios alcalinos (Romero, 2018).

A continuación, en la figura 5 se puede apreciar la estructura química del ketoconazol.

**Figura 5.** Estructura química del ketoconazol.

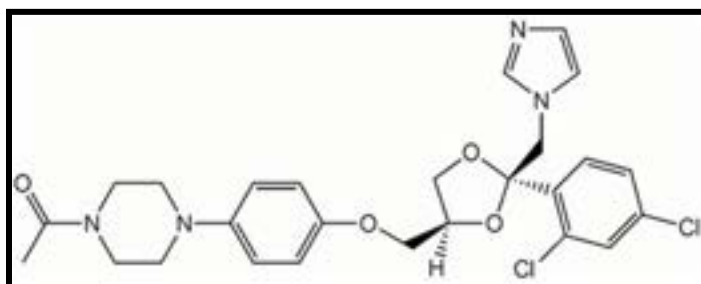
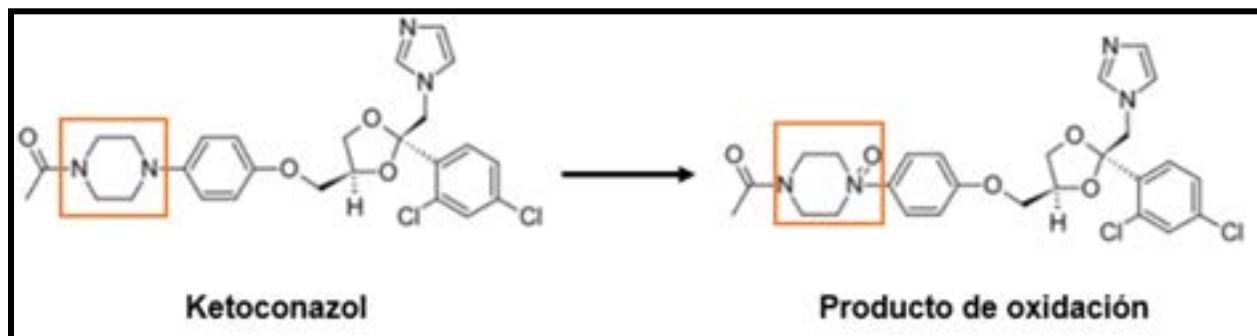


Imagen tomada de (Química Alkano, 2024).

Por otro lado, al ser una base débil, puede presentar degradación oxidativa, especialmente en medios acuosos, la formación del producto de la degradación oxidativa se presenta debido a la formación de un N-óxido en el anillo de piperazina del ketoconazol, el cuál contiene dos átomos de nitrógeno, de los cuales, el par de electrones en el nitrógeno unido al grupo carbonilo participa en la deslocalización por resonancia con este grupo, por lo tanto, el N-óxido es más probable de formarse en el nitrógeno que está unido al grupo fenólico (Mhaske, 2011). A continuación en la figura 6, se muestra la molécula de ketoconazol y el producto al sufrir degradación oxidativa.

**Figura 6.** Producto de la molécula de ketoconazol al presentar degradación oxidativa.



NOTA. La reacción de oxidación ocurre en el anillo de piperazina, en donde, la pérdida de un electrón del nitrógeno unido al grupo fenólico se une a un oxígeno para formar un N-óxido. El grupo encerrado en el recuadro rojo en la imagen de la izquierda, corresponde al anillo de piperazina del ketoconazol, mientras que, el grupo encerrado en el recuadro rojo de la imagen de la derecha, corresponde al producto de la degradación oxidativa, el grupo N-óxido. Elaboración propia adaptada de la fuente (Mhaske, 2011).

Además el ketoconazol puede sufrir fotodegradación y oxidación térmica, la cual puede ocurrir al exponerlo a condiciones térmicas mayores a 60 °C, una forma de identificar la oxidación del ketoconazol es mediante la inspección visual, ya que, el compuesto adquiere una tonalidad rosada al oxidarse (Mhaske, 2011).

Una manera de entender cómo es que la oxidación es capaz de perjudicar en la estabilidad de un fármaco, es conociendo los principios básicos de esta (Fernández, 2023).

#### **4.8 Oxidación**

La oxidación es la segunda vía de degradación más común de los productos farmacéuticos después de la hidrólisis. La oxidación es la pérdida de electrones por parte de la molécula, la cual puede ocurrir por exposición factores externos que pueden provocar degradación oxidativa, ya sea causando un daño directo o actuando como catalizadores en la reacción de oxidación, algunos ejemplos de estos son, la exposición a la luz (foto-oxidación), contacto con especies reactivas oxidantes (ROS, RNS o RSS), alteración en el pH, aumento de temperatura, entre otros.

Por lo tanto, para evitar que fármacos sufran alguna de las reacciones de oxidación es recomendable protegerlos contra la luz, evitar contacto con metales pesados y evitar temperaturas elevadas (>70 °C), así como la adición de antioxidantes en su formulación (Checa, 2017).

#### **4.9 Antioxidantes**

El uso de antioxidantes en la formulación de productos farmacéuticos desempeñan un papel vital como mecanismos de conservación, ya que son utilizados para prevenir la oxidación de estos (Losada-Barreiro et al., 2022); la actividad de cada antioxidante dependerá de su mecanismo de acción, por ejemplo, como agentes inhibidores, donde se encargan de prevenir la reacción en cadena de radicales, ya que reaccionan atacando a los iniciadores de estos, además, pueden ser efectivos bloqueando o ralentizando las reacciones de las biomoléculas con los radicales libres mediante la transferencia de electrones a los radicales libres e inhibiendo el proceso oxidativo,

ejemplos de antioxidantes que actúan de esta manera son, el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT); otro mecanismo con el que actúan es como agentes reductores, en este caso, van a auto-oxidarse selectivamente y así proteger al sustrato mediante reactividad competitiva, un ejemplo de un antioxidante que actúa con este mecanismo es el ácido ascórbico (Gabric, 2022).

#### 4.9.1 Ácido ascórbico

También llamado vitamina C fue descrito y aislado por primera vez en 1928 por el bioquímico húngaro Albert Szent-Györgyies, es un antioxidante soluble en agua, se encuentra de forma natural en frutas cítricas y en muchas verduras, dado que es un nutriente esencial en la dieta humana y es necesario para mantener el tejido conectivo y los huesos, es por ello que ha mostrado tener gran solubilidad acuosa y baja toxicidad, además, funciona como agente reductor y coenzima en varias vías metabólicas, entre las funciones destacables de la vitamina C, se destaca su actividad como antioxidante, ya que actúa protegiendo del daño de los radicales libres al participar en la regulación de los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), o estimulando la biosíntesis y la activación de enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa, la catalasa o la glutatión peroxidasa. El ácido ascórbico al ser uno de los antioxidantes más utilizados en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica, se ha reportado que en formulaciones que incluyen ketoconazol, la concentración utilizada va desde el 0.1 % hasta el 0.5 % en m/v, su fórmula química es  $C_6H_8O_6$  (Geçotek & Skrzydlewska, 2023). La estructura química de este antioxidante puede visualizarse en la siguiente figura (figura 7).

Figura 7. Estructura química del ácido ascórbico.

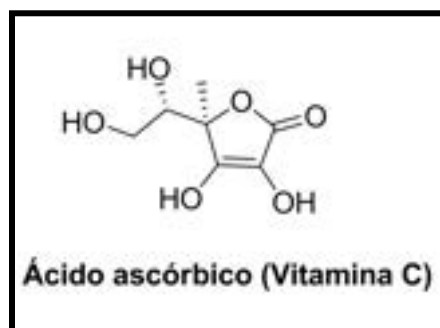


Imagen tomada de (Vega M, 2016).

#### 4.9.2 Butilhidroxitolueno (BHT)

El hidroxitolueno butilado (BHT) es un antioxidante sintético utilizado en productos que contienen grasas y aceites ya que es capaz de retardar la oxidación lipídica mediante la eliminación de radicales libres, además, es el antioxidante fenólico más comúnmente utilizado y reconocido como seguro, debido a su capacidad de eliminar los grupos superóxido del aire mediante los átomos de O del grupo hidroxilo fenólico y los átomos de C del anillo de benceno, tiene el aspecto de un polvo blanco cristalino, es insoluble en agua, y soluble en aceites y disolventes como el etanol, además, se ha reportado que en formulaciones que incluyen ketoconazol, la concentración utilizada va desde el 0.03 % hasta el 0.1 % en m/v, por otro lado, tiene un peso molecular de 220.356 g/mol y su fórmula molecular es  $C_{15}H_{24}O$  (Li, 2023). En la figura 8, se observa la estructura química de este compuesto.

Figura 8. Estructura química del butilhidroxitolueno (BHT).

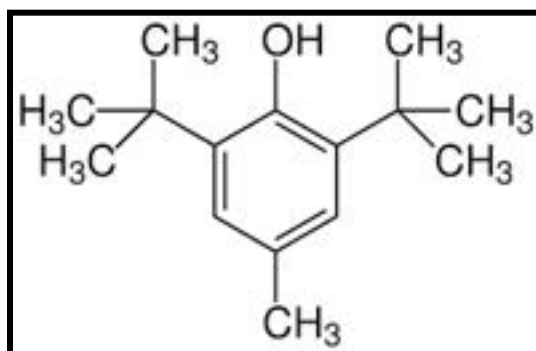


Imagen tomada de (Rojano et al., 2024).

#### 4.10 Evaluación de efecto antioxidante

Una manera de asegurar que un antioxidante cumple su función, es mediante métodos de evaluación de efecto antioxidante, debido a su capacidad para reducir el estrés oxidativo es importante medir la actividad/capacidad antioxidante para garantizar su calidad, existen numerosos ensayos para la medición de este efecto, uno de los más utilizados es el método del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), la prueba de neutralización DPPH se basa en la donación de electrones de los antioxidantes para neutralizar el radical DPPH, que en solución en metanol es de color violeta intenso, se mide con ayuda de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm, a la cual

es medida la absorbancia a la cual la solución DPPH reacciona con un antioxidante, entonces, el color violeta presente en la solución inicial se desvanece, pasando del color violeta a un color amarillo, indicando propiedades antioxidantes de las muestras analizadas (Munteanu & Apetrei, 2021).

Para indicar el porcentaje de captación de DPPH, es decir, la pérdida del color purpura a amarillo cuando se agrega un compuesto antioxidante, se utiliza la siguiente fórmula, donde (A), es la absorbancia de la muestra (Ruiz, 2020).

$$\% \text{ de Captación DPPH} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100$$

Dado que es importante comprobar la estabilidad de las muestras, estas pueden ser sometidas a protocolos de estabilidad acelerada.

#### **4.11 Prueba de estabilidad acelerada**

El propósito de los estudios de estabilidad es proveer evidencia sobre la variación en la calidad de una sustancia o producto farmacéutico en el tiempo, bajo diferentes tipos de condiciones, como la temperatura (ambiente a 20- 25 °C, refrigeración 2- 2.3 °C y/o estufa a 40 °C), humedad (75 % ± 5 %) e iluminación (luz visible, luz ultravioleta u oscuridad) y, de esta manera lograr establecer el período de validez del producto, así como el material de envase elegido y sus condiciones de almacenamiento, estos estudios acelerados son diseñados para aumentar la tasa de degradación química o la modificación física de los productos, usando condiciones extremas de almacenamiento, con el propósito de predecir el periodo de validez tentativo en las condiciones de almacenamiento comercial, estos estudios pueden tener una duración de uno, tres y seis meses, siendo el tiempo recomendado para tener una visión clara de su comportamiento, las formulaciones tópicas con ketoconazol tienen una vida media de 30 días, tiempo después al que la oxidación degrada al principio activo y disminuye la estabilidad (Hussain et al., 2022).

Además de estas pruebas, es importante considerar otras técnicas de caracterización, como una manera de asegurar que todos los componentes que conforman a la

muestra, trabajen en armonía y no afecten no afecten las propiedades del sistema que se está obteniendo.

## **4.12 Caracterización de cristales líquidos**

La caracterización es un proceso fundamental en el desarrollo y evaluación de los productos farmacéuticos, como una manera de conocer las propiedades físicas y químicas de los componentes del sistema, lo que ayuda a optimizar las formulaciones.

### **4.12.1 Aspecto físico**

Las dispersiones se caracterizan en función de su aspecto físico (color), una muestra de cristales líquidos estable tiene un color blanco-azulado, ligeramente translúcida cuando es vista a contraluz, por otro lado, una muestra de cristales líquidos cargada con ketoconazol, se mantiene el color inicial, ya que el color de la muestra está influenciado por la estabilidad del fármaco, en este caso, si el fármaco se oxida, se va a apreciar de manera física, ya que ocurre un cambio de color a un tono rosa, además, no se deben presentar sedimento ni partículas sin disolver en las paredes o el fondo del envase que almacena la formulación, de esta manera, se asegura una correcta incorporación de los componentes de la muestra (Mhaske, 2011).

### **4.12.2 Distribución de tamaño de partícula (DTP)**

El análisis del tamaño de partículas es una técnica para determinar la distribución de tamaños en una muestra de un sólido o un líquido, es una herramienta que se basa en la dispersión láser, es decir, se basa en la relación entre el tamaño de las partículas y el ángulo y la intensidad de la luz dispersada, por lo que, el análisis se determina en función del ángulo y la intensidad de la luz dispersada por las partículas de la muestra y lo transforma en una distribución de tamaño de partículas, para esta investigación, se utiliza el equipo marca: Horiba® (Analizador de distribución de tamaño de partículas por dispersión láser, modelo LA- 950V2), el cual, es un instrumento de difracción láser que mide tamaño de partículas desde 1 nm a 30 mm, además, cuenta con una celda de fracción y un agitador magnético como accesorios (HORIBA Scientific, 2024).

A continuación, se describe el procedimiento para determinar tamaño de partícula con el equipo Horiba®.

1. Se enciende el equipo una hora antes de realizar el análisis ya que debe pasar por un proceso de estabilización.
2. Encender la computadora y abrir la carpeta LA-950V2, programa en el cual se observan los resultados del análisis, después, se selecciona la opción alinear y se espera a que termine la operación.
3. Una vez completa la alineación, se coloca el blanco, el cual se determina de acuerdo a la muestra a analizar, en el caso de los cristales líquidos, el blanco es agua desionizada, de la cual se toman 20 mL y se colocan dentro de la celda de fracción, se introduce la celda en el equipo y en el programa se selecciona la opción "blanco" y se espera a que se termine la acción.
4. Una vez analizado el blanco, este se sustituye por la muestra de cristales líquidos, de la cual se toman 20 mL y se introducen en la celda de fracción, además, se coloca el agitador magnético, una vez lista la celda con la muestra y el agitador, se coloca dentro del equipo y se activa la agitación, después, en el programa se selecciona la opción "medición" y se espera a que se arrojen los resultados.
5. El programa despliega un histograma, en el cual, se observa el tamaño de partícula, el cual debe estar dentro del intervalo de 80- 100 nm, además, no se debe observar la presencia de segundas poblaciones para asegurar un sistema homogéneo estable.
6. Al finalizar, la celda y el agitador se lavan y se guardan en su respectivo estuche.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo experimental se realizó en el laboratorio N- 106 de Farmacia Molecular y Liberación Controlada de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, misma que proporcionó los reactivos necesarios para la investigación.

### 5.1 Materiales

Los materiales utilizados para la preparación de las dispersiones de cristales líquidos son, monooleato de glicerol (Peceol®, de Gattefosé®), propilenglicol monolaurato (Lauroglycol®, de Gattefosé®), poloxámero P407 (Kolliphor® 407 micro Geismar, de BASF Pharma®), ketoconazol (Química LUFRA, S.A. de C.V.), Butilhidroxitolueno BHT (hebbe®), ácido ascórbico (Meyer®) y agua destilada.

### 5.2 Método

#### 5.2.1 Preparación de las dispersiones de cristales líquidos

Las dispersiones se realizaron mediante el método ya establecido en el laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada de la UAM unidad Xochimilco. A continuación en la tabla 1, se presentan las cantidades necesarias para la formulación de los cristales líquidos.

**Tabla 1.** Cantidad de cada componente para la formulación de cristales líquidos.

<b>Materia prima (nombre comercial)</b>	<b>Cantidad</b>
glicerol monooleato	1.66 g
propilenglicol monolaurato	1.66 g
poloxámero 407	1.66 g
ketoconazol	0.30 g
Agua destilada	94.7 mL

## Procedimiento

1. Se precalentaron dos parrillas a 50 °C.
2. Para los componentes que conforman los cristales líquidos, se pesaron, el glicerol monooleato, propilenglicol monolaurato, poloxámero 407 y el ketoconazol, además, del agua destilada.
3. Preparación de la fase acuosa: en un vaso de precipitados de 150 mL, se agregó el agua destilada y se calentó en una de las parrillas precalentadas hasta que alcanzó una temperatura de 50 °C, además, se colocó un agitador magnético en el vaso y se agitó la muestra a 500 rpm hasta que alcanzó la temperatura antes mencionada.

**Etapas 3.1.** Se agregó el antioxidante ácido ascórbico a la fase acuosa y se mantuvo con la agitación y temperatura constantes hasta su completa incorporación.

4. Preparación de la fase oleosa: en un vaso de precipitados de 100 mL se agregó el glicerol monooleato y el propilenglicol monolaurato, se colocó en la parrilla y, además, se agregó un agitador magnético para agitar la muestra a 500 rpm mientras se calentó a una temperatura de 50 °C, se mantuvo así hasta la completa integración de los componentes.
5. Una vez incorporados los componentes, se agregó el poloxámero 407 poco a poco, mientras, se mantuvo a una temperatura de 50 °C y una agitación a 500 rpm hasta que se integró por completo a la mezcla.

**Etapas 5.1.** Se agregó el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a la fase oleosa y se mantuvo con la agitación y temperatura constantes hasta su completa incorporación.

6. Al estar lista la fase oleosa se agregó el ketoconazol a la mezcla de lípidos fundidos con la agitación y temperatura constantes hasta la completa incorporación.
7. Una vez lista la fase oleosa, con ayuda de una pipeta Pasteur, se adicionó lentamente sobre la fase acuosa previamente preparada, mientras se mantuvo la temperatura de 50 °C y una agitación de 500 rpm durante una hora.
8. Al pasar la hora de agitación a 50 °C, se quitó la temperatura y se dejó en

- agitación durante nueve horas a 500 rpm para una total integración de las fases.
9. Se sonicó la muestra una vez pasado el tiempo de agitación de la muestra.
  10. El sonicador se configuró con los siguientes parámetros: ciclos: 100 %, amplitud: 80 %, duración de cada ciclo: 2 minutos.
  11. Para los cristales líquidos, se aplicaron dos ciclos de sonicación de dos minutos cada uno. Entre cada ciclo se registró la temperatura y la potencia.
  12. Se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente (20- 25 °C) y una vez fría la muestra, se filtró al vacío a través de un papel filtro Whatman No. 2.
  13. Por último, se trasvasó la muestra en un recipiente previamente lavado, se etiquetó y almacenó en un lugar oscuro protegido de la luz para garantizar su conservación.

### 5.2.2 Adición de antioxidantes

Los antioxidantes se agregaron de manera independiente y en conjunto a diferentes concentraciones, en el procedimiento anterior se especifica el momento en el que se agregan, el ácido ascórbico (etapa 3.1) y el butilhidroxitolueno (etapa 5.1). A continuación, en la tabla 2, se muestran las distintas concentraciones en las que se adicionaron los antioxidantes.

**Tabla 2.** Cantidad de antioxidante requerida para cada concentración de las muestras de cristales líquidos.

<b>Cantidad de antioxidante para la formulación de cristales líquidos</b>		
<b>Antioxidante</b>		<b>Cantidad (g)</b>
Combinación de antioxidantes 3 %	ácido ascórbico	0.5
	BHT	0.05
ácido ascórbico		1 %: 0.01 g
		3 %: 1 g
butilhidroxitolueno (BHT)		1 %: 0.03 g
		3 %: 0.1 g

### **5.2.3 Ajuste de pH**

El pH de los cristales líquidos es de 7. Para el ajuste de pH de las muestras, se preparó una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0 (Fosfato monobásico de potasio- fosfato dibásico de potasio) y se agregó la solución poco a poco a las muestras de cristales líquidos, mientras se midió el pH con un potenciómetro, hasta llegar a un pH de 7.00.

### **5.2.4 Análisis estadístico**

Se realizó un diseño experimental  $2^3$ , el cual es un tipo de diseño experimental que permite evaluar los efectos de dos variables independientes (una con dos niveles y la otra con tres niveles) sobre una sola variable dependiente, se desarrolló con ayuda del programa Minitab Statistical Software, el cual es un programa que permite realizar diseño de experimentos (DOE), el programa desarrolló un orden estadístico para la elaboración de cada muestra con el fin de asegurar aleatoriedad y las diferentes combinaciones de las variables que se le van a realizar a cada una. En este caso, para el diseño experimental, se evaluaron las siguientes variables, la combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico), a una concentración del 1 % o 3 %, el tiempo de agitación, durante 5 h o 10 h y por último, los ciclos de sonicación, donde se aplicaron dos o cuatro ciclos a las muestras, además por cada combinación de variables, se realizó un triplicado. Mientras que, para evaluar los resultados, se fijó como variables de respuesta, el matiz de color de la muestra, ya sea, rosa (muestra oxidada), o blanco-azulado (muestra no oxidada), la ausencia de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que almacena la muestra y por último, la distribución de tamaño de partícula (DTP), buscando una única población con un tamaño de partícula dentro del intervalo de 80- 100 nm.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Propiedades físicas



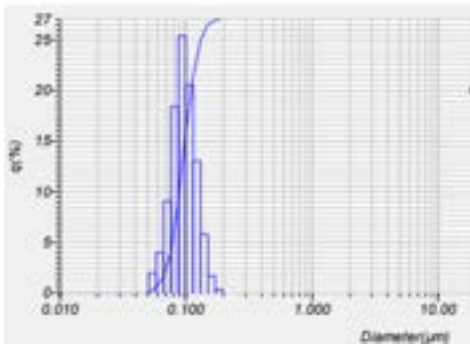
A continuación se presentan los resultados obtenidos a partir de las formulaciones de cristales líquidos placebo, las cargadas con ketoconazol y con la adición de los diferentes antioxidante, además, de las pruebas realizadas para optimizar el proceso y obtener la mejor versión de la formulación de cristales líquidos con las características deseadas.

Los cristales líquidos cargados con ketoconazol se prepararon de acuerdo con el procedimiento establecido, por lo que, como primer paso para observar el comportamiento de la muestra, dado que el aspecto físico es el principal parámetro para determinar si hay oxidación, se analizó de manera visual, ya que, se espera obtener una muestra con un color blanco-azulado y se mantenga, porque un cambio del color a un tono rosa, indica que el fármaco sufrió oxidación.

Además del análisis físico de las muestras de cristales líquidos, también se indica que deben presentar una distribución de tamaño de partícula (DTP) con un promedio de tamaño dentro de un intervalo de 80- 100 nm , el cual se midió utilizando el equipo Horiba®, del cual, su procedimiento fue descrito previamente.

A continuación, en la tabla 3, se presenta una comparación entre una muestra considerada como visualmente ideal y de una muestra con el cambio de coloración a rosa, indicando una muestra visualmente oxidada, además, de los resultados de la distribución de tamaño de partícula de la muestra de cristales líquidos no oxidada, ya que sirve como referencia del resultado que se debe esperar de acuerdo con lo establecido anteriormente.

**Tabla 3.** Aspecto físico de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol, tanto una muestra visiblemente sin oxidación **(a)**, como una muestra visiblemente oxidada **(b)**. Además de los resultados de distribución de tamaño de partículas de la muestra no oxidada.

<b>Aspecto físico (color) de muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol</b>	
<b>Muestra sin oxidación</b>	<b>Muestra oxidada</b>
 <p><b>a.</b></p>	 <p><b>b.</b></p>
<b>DTP</b>	
<p>Tamaño de partícula (promedio): <b>97.91 nm</b></p> <p>No se observa la presencia de segundas poblaciones</p>	

De acuerdo con los resultados obtenidos, el método establecido cumple con el propósito de obtener muestras de cristales líquidos, con las características esperadas, tanto en el aspecto físico (color), dado que se muestra con un color en un tono blanco-azulado, además de que se observa ligeramente translúcida y sin sedimentos en las paredes o el fondo del frasco, en cuanto a la distribución de tamaño de partícula, no se observan segundas poblaciones en el gráfico y presenta un tamaño de partícula promedio de 97.91 nm, por lo que se encuentra dentro del intervalo establecido.

Aunque en el gráfico de la distribución de tamaño de partícula se observa un tamaño adecuado, la distribución de tamaño se visualiza amplia, lo que indica polidispersidad, dado que se busca obtener la mínima polidispersidad posible, y como uno de los objetivos del proyecto, se buscó optimizar el proceso de sonicación como una manera de reducir el tamaño de partícula y por lo tanto la polidispersidad.

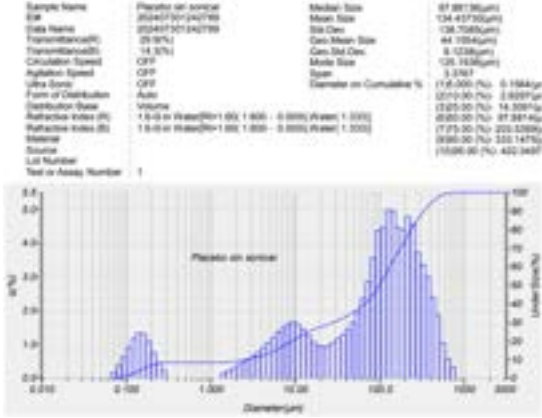
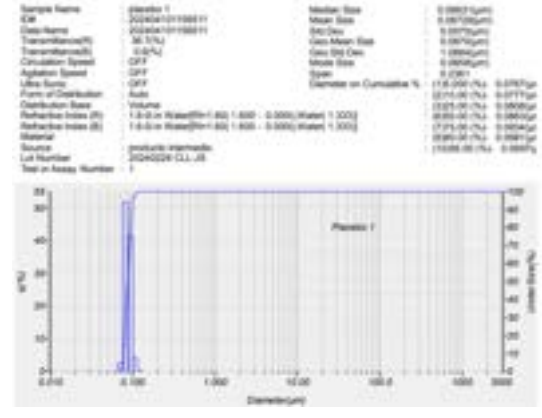


## **6.2 Sonicación**

### **6.2.1 Importancia de la sonicación en la obtención de cristales líquidos**

Como uno de los objetivos de la investigación es optimizar y establecer las condiciones del número de ciclos de sonicación para la obtención de las dispersiones líquido-cristalinas, ya que, es una etapa crítica del método para generar distribuciones de tamaño de partícula dentro de un intervalo de 80- 100 nm y poca polidispersidad, por lo que, se asegura una muestra con uniformidad en el tamaño de sus partículas.

A continuación, en la tabla 4 se presenta un ejemplo de dos muestras de cristales líquidos placebo, una muestra sonicada y una que no está sonicada, con el objetivo de confirmar la importancia de esta prueba.

**Tabla 4.** Contraste entre una muestra de cristales líquidos placebo sometida a sonicación y una muestra placebo no sonicada, comparando su distribución de tamaño de partícula (DTP).

<b>Sonicación en muestras de cristales líquidos placebo</b>	
<b>DTP</b>	
<b>Muestra no sonicada</b>	<b>Muestra sonicada</b>
<p>promedio: 134,437.3 nm Transmitancia: 29.9 %</p> 	<p>promedio: 87.29 nm Transmitancia: 36.7 %</p> 
<b>Aspecto físico</b>	
<b>Muestra no sonicada</b>	<b>Muestra sonicada</b>
 <p>muestra totalmente opaca de aspecto lechoso</p>	 <p>muestra ligeramente opalescente</p>

De acuerdo con los resultados anteriores, se confirma que la sonicación es una parte del proceso importante en la obtención de cristales líquidos para reducir su tamaño de partícula, ya que, una muestra sonicada presenta una distribución de tamaño de partícula con un valor de 87.29 nm, mientras que el valor del tamaño de partícula en la muestra no sonicada tiene un valor de 134,437.3 nm, con esto se demuestra que una muestra sonicada muestra un mayor orden y uniformidad en el tamaño de las partículas, lo cual se observa en la polidispersidad de la única población presente, mientras que en el caso de la muestra no sonicada, se observa desorden y gran polidispersidad entre las diferentes poblaciones existentes.

Además, en cuanto a la transmitancia, en los resultados del equipo, la muestra sonicada tiene un valor de 36.7 % y la muestra no sonicada, un valor de 29.9 %, no se aprecia una diferencia significativa, pero al analizar el aspecto físico de las muestras, la muestra sonicada tiene un aspecto ligeramente transparente y se logra percibir la presencia del agitador magnético que se encuentra dentro de la muestra, además no hay sedimento en el fondo o las paredes del frasco que la contiene, en cambio, la muestra no sonicada se observa totalmente opaca con un aspecto lechoso donde no se aprecia el agitador magnético que se encuentra dentro de la muestra, además presenta sedimento tanto en el fondo como en las paredes del frasco que la contiene.





Por lo que, la sonicación es un paso importante en la obtención de cristales líquidos con un tamaño de partícula dentro del establecido de 80- 100 nm, una única población con poca polidispersidad y una muestra con un aspecto ligeramente transparente y sin sedimentos presentes en su interior, por lo tanto, establecer las condiciones para la prueba de sonicación y optimizar el proceso, es importante en esta investigación.



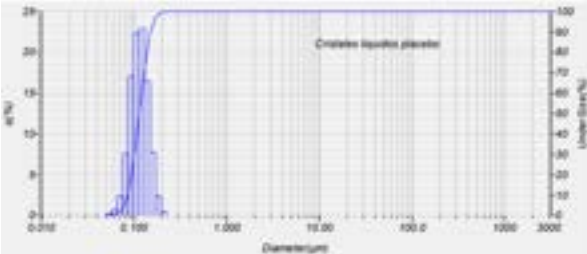


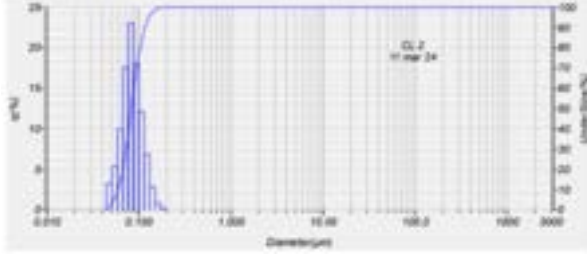


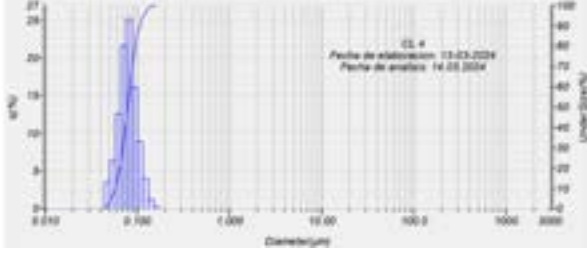


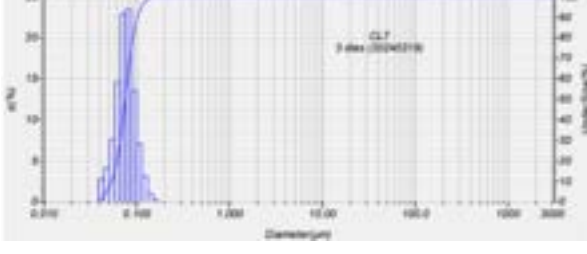
### **6.2.2 Condiciones iniciales de sonicación para la obtención de cristales líquidos cargados con ketoconazol**

El método establece como condiciones iniciales para obtener dispersiones líquido-cristalinas con un tamaño de partícula dentro del intervalo ya mencionado, 4 ciclos de sonicación, con ciclos= 80 %, una amplitud= 50 % y con una duración de cada ciclo de 1 minuto. Por lo que, el objetivo de establecer nuevas condiciones a partir de

las establecidas en el método, es la optimización del mismo, buscando que las muestras control con ketoconazol mantengan su distribución de tamaño de partícula dentro del intervalo establecido; además, dado que la sonicación provoca que la muestra se caliente, también se monitoreó el color de esta, ya que a temperaturas mayores a 60 °C se observa una coloración rosa debido a la oxidación del ketoconazol, por lo que, se buscó que el sistema líquido cristalino mantuviera una coloración blanco-azulada. Estos resultados pueden observarse en la tabla 5.

**Tabla 5.** Condiciones de sonicación experimentales para determinar las de mejores resultados, a partir de las condiciones de sonicación establecidas en el método inicial, basándose en la distribución de tamaño de partícula (DTP) y el aspecto físico (color) de las muestras de cristales líquidos con ketoconazol (KTZ) y una muestra placebo.

Muestra de cristales líquidos	Aspecto		Condiciones sonicación	DTP
Con KTZ 1 (sonicación del método establecido)			amplitud: 50 % ciclos: 80 %  <b>Resultados</b> T°= 29.1 °C x 1 min T <sup>1</sup> = 35.5 °C x 1 min T <sup>2</sup> = 40.5 °C x 1 min T <sup>3</sup> = 45.6 °C x 1 min T <sup>4</sup> = 48.4 °C	La muestra se tornó de color rosa a los dos días de su preparación, lo cual es el indicativo principal de que el ketoconazol se oxidó, por lo que se descartó por su inestabilidad y no se midió su tamaño de partícula.
con KTZ 2			amplitud: 50 % ciclos: 80 %  <b>Resultados</b> T°= 28.2 °C x 2 min T <sup>1</sup> = 41.7 °C x 2 min T <sup>2</sup> = 51.7 °C x 2 min T <sup>3</sup> = 59.6 °C	La muestra presentó sedimento en el fondo y en las paredes del frasco que la contenía, lo cual impidió que se midiera su tamaño de partícula.

<p>Placebo 3</p>			<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados</b> T°= 36.2 °C x 1 min T¹= 53.5 °C</p>	<p>promedio: 116.96 nm</p> 
<p>Con KTZ 4</p>			<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados</b> T°= 27.6 °C x 1 min T¹= 40.3 °C x 1 min T²= 50.3 °C</p>	<p>promedio: 85.77 nm</p> 
<p>Con KTZ 5</p>			<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 28.7 °C x 1 min T¹= 41.2 °C x 1 min T²= 51.2 °C x 1 min T³= 58.6 °C</p>	<p>promedio: 80.69 nm</p> 
<p>con KTZ 6</p>			<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 25.1 °C x 2 min T¹= 46.2 °C x 2 min T²= 61.8 °C</p>	<p>promedio: 77.23 nm</p> 

NOTA. Donde, "T<sup>0</sup>" se refiere a la temperatura inicial a la que se encuentra la muestra de cristales líquidos antes de someterla a sonicación y donde, "T<sup>n</sup>", se refiere a la temperatura de la muestra después de cada ciclo de sonicación (n).

La muestra uno, que se sometió a las condiciones de sonicación establecidas en el método, se oxidó al cabo de dos días al presentar un cambio de color del blanco-azulado a el rosa, por lo que, se descartaron las condiciones utilizadas para su fabricación debido a la inestabilidad presentada. A partir de estos resultados, se

utilizaron como base para experimentar con diferentes condiciones de sonicación y con la duración de cada ciclo.

En la muestra dos, se mantuvieron las condiciones, pero se aumentó a dos minutos la duración de cada ciclo, resultando en tres ciclos de sonicación ya que se tuvo como referencia la temperatura de 60 °C como señal de parar, ya que es la temperatura a la que se oxida el ketoconazol, en este caso, la muestra no se presentó estable ya que presentó sedimento en el fondo y en las paredes del frasco que la almacenan y no se pudo leer su tamaño de partícula.

Después, se probaron diferentes condiciones con una muestra placebo para observar el comportamiento antes de probar en una muestra con ketoconazol, las cuales fueron, una amplitud= 80 % y ciclos= 100 %, con la misma duración de un minuto de cada ciclo, tal como lo establecido en el método inicial, en este caso bastó con un solo ciclo para aumentar la temperatura hasta casi los 60 °C, además, la muestra presentó un tamaño de partícula promedio de 116.96 nm, lo cual sobrepasa el límite del intervalo establecido de 80- 100 nm. Dado que el comportamiento con ketoconazol podría variar estos resultados, se probaron ahora las condiciones en muestras con ketoconazol, en este caso, para las muestras cuatro y cinco, se utilizaron las mismas condiciones y duración de cada ciclo establecidas para la muestra placebo, como respuesta, las muestras cuatro y cinco presentaron un valor menor de tamaño de partícula con respecto a la muestra placebo, con un valor de 85.77 nm y 80.69 nm respectivamente, siendo aceptado dentro del tamaño establecido de los cristales líquidos.

Como última prueba, para la muestra seis con ketoconazol, se probaron las mismas condiciones de la muestra placebo, pero aumentando el tiempo de cada ciclo de sonicación a dos minutos, la muestra aumentó drásticamente de temperatura entre cada ciclo, manteniéndose en el límite de los 60 °C, lo cual no afectó al ketoconazol, ya que la muestra se mantuvo con un tono de color blanco-azulado, indicando que no existía oxidación, además como tamaño de partícula, presentó un valor mucho menor comparado con el de las demás muestras, siendo de 77.23 nm, muy próximo al establecido.

De acuerdo con estos resultados, se determinaron como nuevas condiciones, aplicar dos ciclos de sonicación con una duración de dos minutos cada uno, una amplitud del 80 % y 100 % de ciclos, tales condiciones se probaron en nuevas formulaciones de cristales líquidos, tanto en muestras placebo como en muestras cargadas con ketoconazol.

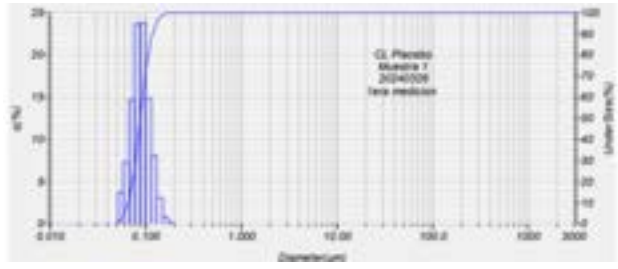
### 6.2.3 Condiciones optimizadas de sonicación probadas en muestras de cristales líquidos placebo y muestras cargadas con ketoconazol

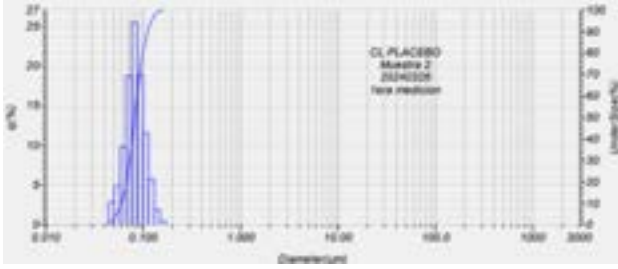
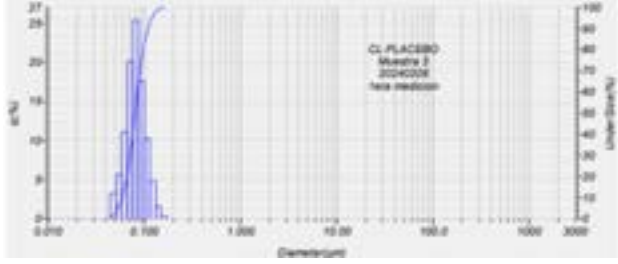
#### 6.2.3.1 Muestras placebo de cristales líquidos

Se formularon muestras placebo de los cristales líquidos con las condiciones establecidas gracias a las pruebas anteriores de las condiciones para la sonicación, con el objetivo de observar su comportamiento sin el principio activo (ketoconazol), de esta manera se podrá determinar su estabilidad y si se observan diferencias significativas una vez esté el ketoconazol presente.

A continuación, en la tabla 6 se presentan los resultados de una muestra placebo formulada por triplicado para evaluar su comportamiento ante las condiciones de sonicación establecidas para el método de obtención de cristales líquidos.

**Tabla 6.** Resultados del triplicado de la muestra de cristales líquidos placebo formulada bajo las condiciones de sonicación establecidas, en función de la distribución de tamaño de partícula (DTP).

<b>Cristales líquidos placebo</b>		
<b>No. muestra</b>	<b>Condiciones de sonicación</b>	<b>DTP</b>
<b>1</b>	amplitud: 80 % ciclos: 100 %  <b>Resultados:</b> T°= 24.7 °C x 2 min T <sup>1</sup> = 48.3 °C x 2 min T <sup>2</sup> = 62.4 °C	promedio: 90.08 nm 

<p><b>2</b></p>	<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 26.8 °C x 2 min T<sup>1</sup>= 46.7 °C x 2 min T<sup>2</sup>= 60.2 °C</p>	<p>promedio: 84.34 nm</p> 
<p><b>3</b></p>	<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 25.2 °C x 2 min T<sup>1</sup>= 48.9 °C x 2 min T<sup>2</sup>= 62.9 °C</p>	<p>promedio: 82.59 nm</p> 

NOTA. Donde, “T<sup>0</sup>” se refiere a la temperatura inicial a la que se encuentra la muestra de cristales líquidos antes de someterla a sonicación y donde, “T<sup>n</sup>”, se refiere a la temperatura de la muestra después de cada ciclo de sonicación (n).

La muestra placebo presenta resultados adecuados, el triplicado, en cuanto a los ciclos de sonicación, mantienen un incremento de la temperatura constante, manteniéndose al límite de los 60 °C y un tamaño de partícula dentro del intervalo establecido de 80-100 nm, no se observa la presencia de segundas poblaciones y en los frascos que las almacenan no hay sedimento en las paredes o el fondo de estos.

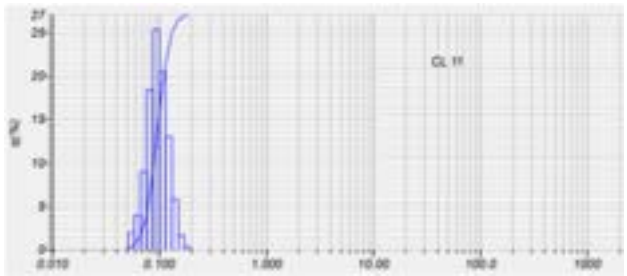
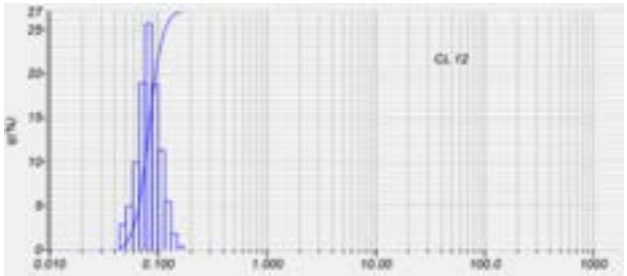
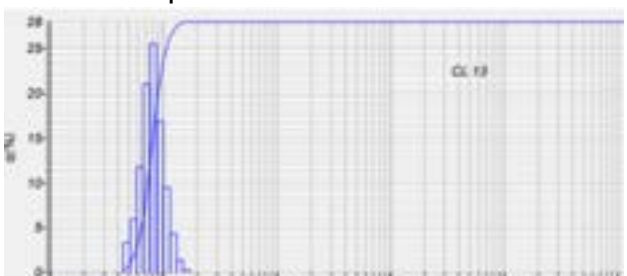
Por lo que, se probaron las condiciones de sonicación ahora en muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol, con el objetivo de observar y determinar si existen diferencias significativas en los resultados de la distribución de tamaño de partícula (DTP).

### 6.2.3.2 Muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol

Al observar un comportamiento adecuado de las muestras placebo, se procedió a formular cristales líquidos cargados con ketoconazol y observar si ese comportamiento se mantiene estable al someterlas a las mismas condiciones de fabricación.

A continuación en la tabla 7 se presentan los resultados del triplicado de la muestra con ketoconazol y su comportamiento tras su obtención.

**Tabla 7.** Resultados del triplicado de la muestra de cristales líquidos cargados con ketoconazol formulada bajo las condiciones de sonicación establecidas, en función de la distribución de tamaño de partícula (DTP).

<b>Cristales líquidos cargados con ketoconazol</b>		
<b>No. muestra</b>	<b>Condiciones de sonicación</b>	<b>DTP</b>
<b>1</b>	<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 26.7 °C x 2 min T<sup>1</sup>= 48.6 °C x 2 min T<sup>2</sup>= 63.0 °C</p>	<p>promedio: 97.91 nm</p> 
<b>2</b>	<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 26.4 °C x 2 min T<sup>1</sup>= 45.6 °C x 2 min T<sup>2</sup>= 59.5 °C</p>	<p>promedio: 84.06 nm</p> 
<b>3</b>	<p>amplitud: 80 % ciclos: 100 %</p> <p><b>Resultados:</b> T°= 25.0 °C x 2 min T<sup>1</sup>= 46.7 °C x 2 min T<sup>2</sup>= 60.5 °C</p>	<p>promedio: 81.56 nm</p> 

NOTA. Donde, "T<sup>0</sup>" se refiere a la temperatura inicial a la que se encuentra la muestra de cristales líquidos antes de someterla a sonicación y donde, "T<sup>n</sup>", se refiere a la temperatura de la muestra después de cada ciclo de sonicación (n).

De acuerdo con los resultados obtenidos, las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol presentaron un comportamiento similar ante las condiciones de sonicación que se les aplicaron, se observó el mismo incremento de temperatura entre cada ciclo de sonicación, con una diferencia de 20 °C aproximadamente, mientras que, en cuanto al tamaño de partícula, todas las muestras del triplicado mantuvieron su tamaño dentro del intervalo de 80- 100 nm.

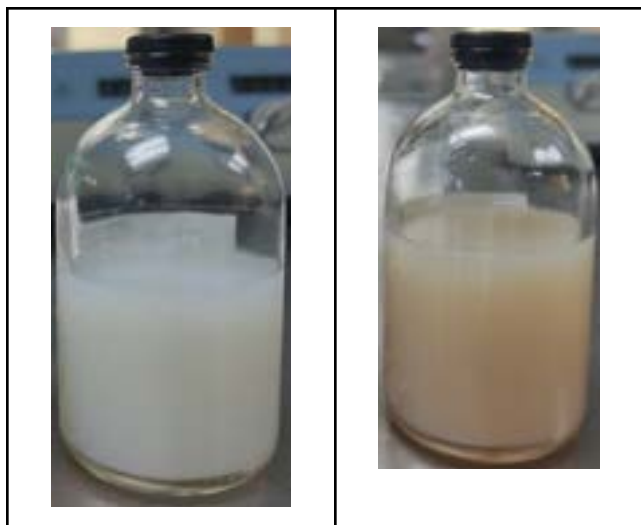
Además, se analizó el aspecto físico de las muestras con el objetivo de observar si se presentaba algún cambio de color como determinante de una oxidación del ketoconazol debido a que se alcanzó la temperatura ante la cual el ketoconazol sufre oxidación, la cual se presenta de manera física en el color de la muestra, al cambiar de un color blanco-azulado, a un color rossa.

Las muestras cargadas con ketoconazol mantuvieron su color con un tono blanco-azulado durante una semana, después, comenzaron a cambiar a un tono salmón claro, lo cual puede atribuirse al cambio tan brusco de temperatura que sufren las muestras al momento de someterlas a sonicación, que aunque no sobrepasan los 60 °C, sufren un aumento de 20 °C entre cada ciclo, pudiendo afectar su estabilidad.

A continuación, en la tabla 8 se puede apreciar el aspecto físico de las muestras y el cambio de coloración que sufrieron al cabo de cinco días de su fabricación.

**Tabla 8.** Aspecto físico (color) de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol en su primer día de fabricación y cinco días después.

<b>Cristales líquidos cargados con ketoconazol</b>	
Aspecto físico (color) a días de su fabricación	
1 Día	5 Días
Se observa una muestra con un tono blanco-azulado	Se observa una muestra con un cambio de color a salmón claro



Con respecto a los resultados de distribución de tamaño de partícula, el triplicado de la muestra de los cristales líquidos cargados con ketoconazol, presentan un tamaño de partícula dentro del establecido (80- 100 nm) por lo que los ciclos de sonicación son favorables para obtener el tamaño adecuado de éstos, sin embargo, entre cada ciclo, la temperatura sufre un incremento de 20 °C, lo que pudo afectar la estabilidad de la muestra, ya que aunque no se sobrepasó la temperatura de los 60°C, al cabo de cinco días, se observó un cambio en el color de éstas, pasando de un color blanco-azulado, a un color salmón claro, que aunque no es precisamente rosa (color que indica oxidación del ketoconazol), nos indica una muestra poco estable.

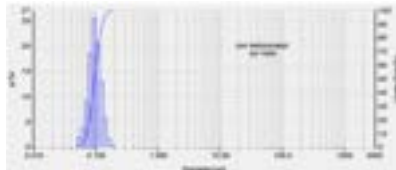
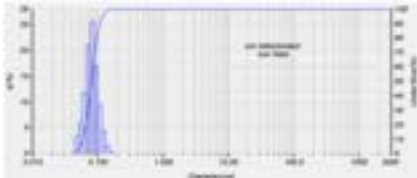
De acuerdo con los resultados obtenidos anteriormente, se buscó optimizar el proceso de sonicación con el objetivo de evitar el drástico incremento de temperatura y por lo tanto, evitar la oxidación del ketoconazol contenido en las muestras de cristales líquidos.

#### **6.2.4 Método para optimizar la sonicación y evitar la oxidación del ketoconazol contenido en las muestras de cristales líquidos**

Con base en los resultados obtenidos en las muestras de los cristales líquidos cargados con ketoconazol y su poca estabilidad, dado que sufrieron un cambio de coloración cinco días después de su fabricación, se buscó un nuevo método para las condiciones de sonicación, con el objetivo de mejorar la estabilidad y optimizar el proceso. Las condiciones establecidas fueron, realizar los ciclos de sonicación a

temperatura ambiente (20- 25 °C) y en un baño de hielo, lo que consiste en mantener las muestras dentro de un recipiente con hielo (0 °C) mientras son sometidas a la sonicación, esto con la intención de que entre cada ciclo, no se presente un cambio de temperatura drástico, como se vió anteriormente y, de esta manera determinar si es una opción para optimizar el proceso y mejorar la estabilidad. Se procedió a analizar muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol y observar su comportamiento ante las condiciones de sonicación previamente establecidas, es decir, a temperatura ambiente (20- 25 °C) y en un baño de hielo (0 °C), y así determinar su comportamiento con base en el incremento de temperatura entre cada ciclo de sonicación y en su distribución de tamaño de partícula (DTP). En la tabla 9 se pueden observar los resultados de esta prueba.

**Tabla 9.** Muestras de cristales líquidos cargadas con ketoconazol sometidas a sonicación a diferentes condiciones, las cuales son, a temperatura ambiente (20- 25 °C) y en un baño de hielo (0 °C), los resultados se determinaron en cuanto al incremento de temperatura entre cada ciclo de sonicación y su distribución de tamaño de partícula (DTP).

<b>Cristales líquidos sometidos a una sonicación a diferentes condiciones de temperatura</b>		
<b>Condiciones de sonicación</b>	<b>Ciclos de sonicación</b>	<b>DTP</b>
<b>Temperatura ambiente</b> (20- 25 °C)	amplitud: 80 % ciclos: 100 % <b>Resultados:</b> T°= 26.7 °C x 2 min T <sup>1</sup> = 48.6 °C x 2 min T <sup>2</sup> = 63.0 °C	promedio: 97.91 nm 
<b>Baño de hielo</b> (0 °C)	amplitud: 80 % ciclos: 100 % <b>Resultados:</b> T°= 23.0 °C x 2 min T <sup>1</sup> = 41.9 °C x 2 min T <sup>2</sup> = 53.9 °C x 2 min T <sup>1</sup> = 59.3 °C x 2 min T <sup>2</sup> = 62.4 °C	promedio: 81.56 nm 

NOTA. Donde, “T<sup>0</sup>” se refiere a la temperatura inicial a la que se encuentra la muestra de cristales líquidos antes de someterla a sonicación y donde, “T<sup>n</sup>”, se refiere a la temperatura de la muestra después de cada ciclo de sonicación (n).





De acuerdo con los resultados obtenidos, la sonicación de una muestra en un baño de hielo y a temperatura ambiente, presentan algunas diferencias, en primer lugar, una sonicación a temperatura ambiente, resiste únicamente dos ciclos de sonicación antes de alcanzar los 60 °C, y con una diferencia significativa entre cada ciclo (aproximadamente 20 °C), por otro lado, la sonicación con la muestra en un baño de hielo, resiste cuatro ciclos de sonicación, y en comparación con la anterior, el cambio de temperatura entre cada ciclo se ve un poco más controlada, donde a partir del segundo ciclo, el cambio de temperatura es de 4 °C de diferencia aproximadamente.

Por otro lado, al analizar la distribución de tamaño de partícula, la muestra sonicada a temperatura ambiente, presenta un tamaño de partícula de 97.91 nm y la muestra sonicada en un baño de hielo, presenta un tamaño de partícula de 81.56 nm, a pesar de que no hay tanta diferencia entre sus tamaños, la muestra con un menor tamaño de partícula es la muestra sonicada en un baño de hielo.

En cuanto al aspecto físico de las muestras ambas presentan una coloración inicial blanco-azulada, indicando que a pesar de las diferencias de temperatura a las que fueron sonicadas no presentaron una diferencia significativa en cuanto a su color, sin embargo, al pasar los cinco días en los que se observó un cambio de coloración en la prueba anterior (6.2.3 Condiciones optimizadas de sonicación probadas en muestras de cristales líquidos placebo y muestras cargadas con ketoconazol), la muestra sonicada a temperatura ambiente, volvió a presentar este inicio de cambio de color a un tono rosa, mientras que la muestra sonicada en un baño de hielo, se mantuvo en su color inicial blanco-azulado.

En la tabla 10 se muestra el aspecto físico de estas muestras y el cambio de color que presentó la muestra sonicada a temperatura ambiente al cabo de cinco días de su fabricación.

**Tabla 10.** Aspecto físico (color) de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol sometidas a una sonicación a temperatura ambiente (20- 25 °C) y en un baño de hielo (0 °C), con respecto a su primer día de fabricación y cinco días después.

<b>Aspecto físico de muestras de cristales líquidos cargadas con ketoconazol sometidas a una sonicación a diferentes condiciones de temperatura</b>		
Aspecto físico (color) a días de su fabricación		
Temperatura a la que se sonicó la muestra	1 Día	5 Días
Temperatura ambiente (20- 25 °C)	Se observa una muestra con un tono blanco-azulado 	Se observa una muestra con un cambio de color apenas visible a un tono salmón claro 
Temperatura a baño de hielo (0 °C)	Se observa una muestra con un tono blanco-azulado 	Se observa una muestra que mantiene un tono blanco-azulado 

Sin embargo, al examinar los frascos que las contenían, se presentaron hallazgos interesantes y diferentes entre ellas.

Al poco tiempo de terminar su sonicación se formó un halo de micropartículas de color negro en el fondo del frasco, el cual se situó en el contorno del fondo del frasco,

además, solo se presenció en las muestras sonicadas en el baño de hielo, las muestras a temperatura ambiente no presentaron ningun halo.

Al observar las partículas con detenimiento, estas fueron asociadas a un posible desgaste del sonotrodo utilizado en la sonicación, ya que su presencia fué solo en las muestras a las que se les aplicaron cuatro ciclos de sonicación, cuando lo que una muestra a temperatura ambiente aguanta son únicamente dos ciclos. Estos resultados pueden apreciarse en la siguiente tabla (11).

**Tabla 11.** Halo de micropartículas negras presente en la muestra de cristales líquidos cargada con ketoconazol sonicadas en baño de hielo.



NOTA. El cuadro rojo encierra e indica la posición del halo de micropartículas negras.

Además, se observó sedimento en el fondo del frasco que contiene a la muestra con ketoconazol que fué sonicada a temperatura ambiente, lo que podría explicar la polidispersidad que se aprecia en el análisis de la distribución de tamaño de partícula (DTP), ya que, al haber sedimento, podría ser un indicativo de una posible falta de homogeneización del ketoconazol con los demás componentes de la mezcla, a pesar de cumplir con el tamaño de partícula con un valor de 97.91 nm, incluyendo además, que este sedimento no se observa en la muestra con ketoconazol sonicada a baño de

hielo, la cual tuvo dos ciclos más de sonicación, por lo que pudo ayudar con la homogeneización de los componentes y por lo tanto disminuir el tamaño de partícula al presentar un valor de 81.56 nm.

En la siguiente tabla (12) se puede observar el sedimento que presentaron las muestras.

**Tabla 12.** Sedimento presente en la muestra de cristales líquidos cargados con ketoconazol sonicada a temperatura ambiente.

<b>Sedimento presenta en la muestra de cristales líquidos cargada con ketoconazol sonicada a temperatura ambiente</b>
<b>Muestra cargada con ketoconazol</b>
 <p data-bbox="240 1289 1393 1325">Fondo del frasco completamente opaco, debido al exceso de sedimento presente</p>

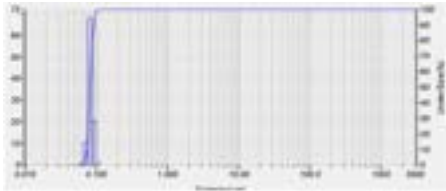

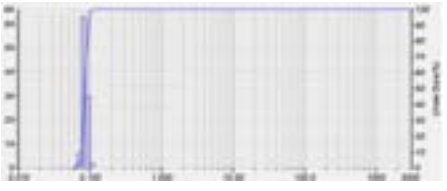

Sin embargo, como ya se mencionó, a pesar del beneficio en el tamaño de partícula, los cuatro ciclos de sonicación provocan un desgaste en el sonotrodo y por lo tanto, afectan tanto en la apariencia, como en la composición de la muestra al generar el halo de micropartículas negras, por lo que, a manera de optimizar el proceso de obtención de cristales líquidos con poca polidispersidad en el análisis de la distribución de tamaño de partícula (DTP), se optó por optimizar el proceso de agitación, con el objetivo de obtener una completa homogeneización de los componentes de las muestra.

### 6.3 Optimización de la agitación aplicada en la fabricación de cristales líquidos

Con el objetivo de mantener un tamaño de partícula dentro del intervalo establecido (80- 100 nm), además de poca polidispersidad para asegurar uniformidad en el tamaño de las partículas de las muestras, se buscó optimizar los resultados obtenidos a partir de la prueba de sonicación que se realizó anteriormente a diferentes temperaturas, la propuesta consistió en aumentar el tiempo de agitación de la muestra una vez incorporado el ketoconazol, dejando la muestra durante diez horas en agitación constante a 500 rpm, con el objetivo de optimizar la homogeneización de los componentes de la muestra para obtener un tamaño de partícula adecuado, poca polidispersidad y evitar la presencia de sedimento en el fondo o las paredes de los frascos que las contienen, asegurando una completa homogeneización, además, de evitar el desgaste del sonotrodo al aplicar únicamente dos ciclos de sonicación.

A continuación, en la tabla 13, se muestran los resultados obtenidos a partir de las muestras sometidas al proceso de formulación optimizado, el cual consiste en agitarlas durante diez horas a 500 rpm, el proceso fue probado en muestras placebo y en muestras cargadas con ketoconazol con el objetivo de determinar si hay varianzas en sus comportamientos.

**Tabla 13.** Resultados del comportamiento de las muestras de cristales líquidos placebo y muestras cargadas con ketoconazol sometidas a una agitación constante a 500 rpm durante diez horas y posteriormente sonicadas con dos ciclos, visualizando los resultados en función a su distribución de tamaño de partícula (DTP) y en su aspecto físico (presencia o no de sedimento en el fondo del frasco).

<b>Muestras de cristales líquidos agitadas durante diez horas</b>			
<b>Muestra placebo</b>		<b>Muestra cargada con ketoconazol</b>	
<b>DTP</b>	<b>Aspecto</b>	<b>DTP</b>	<b>Aspecto</b>
promedio: 82.94 nm 		promedio: 84.81 nm 	

Las muestras agitadas durante diez horas, mostraron resultados satisfactorios, en cuanto a su aspecto físico, tanto la muestra placebo, como la de ketoconazol, conservan un color blanco-azulado y no se observa la presencia de sedimento en el fondo o las paredes de los frascos que las contienen, además, en cuanto a la distribución de tamaño de partícula, las muestras se comportan de manera similar y presentan un tamaño de partícula de 82.94 nm la muestra placebo y de 84.84 nm la muestra cargada con ketoconazol, observando que no hay una diferencia de tamaño significativa entre ellas, además se observa una menor polidispersidad que la obtenida en la anterior prueba, confirmando que la agitación y la sonicación actuaron en conjunto para tener una homogeneización más efectiva.

Al tener resultados similares en los aspectos que se evaluaron, se puede asumir que las muestras presentan estabilidad en cuanto a si está el ketoconazol presente o no.

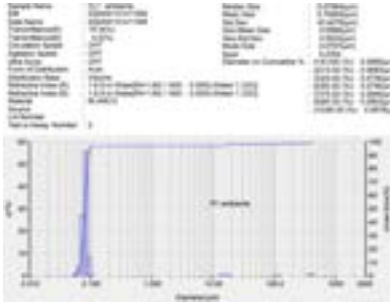
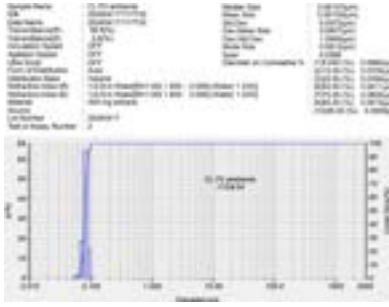
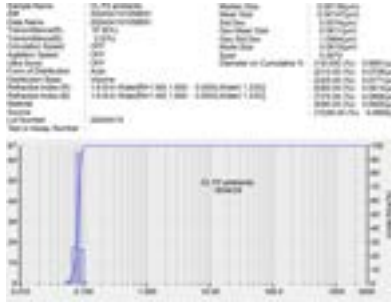
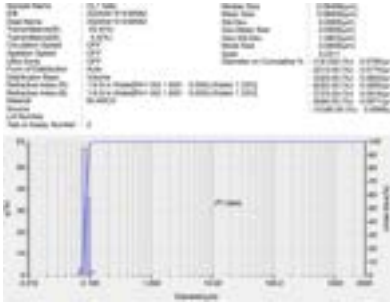
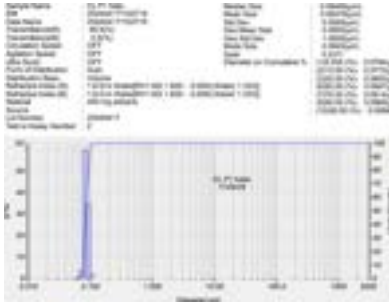
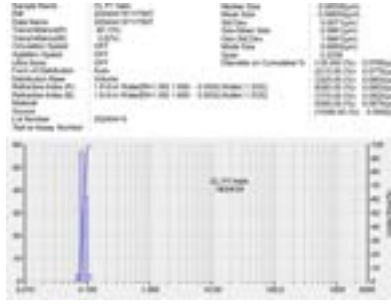
Las condiciones de sonicación y de agitación se optimizaron gracias a las pruebas realizadas y analizando el comportamiento de muestras placebo y de muestras cargadas con ketoconazol, por lo que, ahora se buscó evaluar la estabilidad de las muestras durante cinco días para observar si existe alguna diferencia significativa en la distribución de tamaño de partícula (DTP).

#### **6.4 Estabilidad de las muestras de cristales líquidos, a partir del proceso de sonicación y agitación optimizados**

Esta prueba de estabilidad de cinco días se evaluó con respecto a la distribución de tamaño de partícula (DTP) de las muestras.

En la siguiente tabla (14) se pueden observar los resultados de la prueba de estabilidad, analizando muestras placebo y muestras cargadas con ketoconazol, sometidas a una agitación constante durante diez horas a 500 rpm, y analizando la sonicación a temperatura ambiente (20- 25 °C) y con baño de hielo (0 °C), con el objetivo de determinar si existe algún cambio significativo en sus comportamientos.

**Tabla 14.** Resultados de la distribución de tamaño de partícula (DTP) obtenidos a partir de la prueba de estabilidad de muestras placebo, sometidas a una agitación constante durante diez horas a 500 rpm, y dos diferentes condiciones de sonicación, a temperatura ambiente (20- 25 °C) y con baño de hielo (0 °C).

<b>Prueba de estabilidad durante cinco días a muestras de cristales líquidos placebo</b>		
<b>Muestra sonicada a temperatura ambiente</b>		
<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>
<b>DTP (promedio)</b>		
<p>Tamaño de partícula: 79.7 nm</p> 	<p>Tamaño de partícula: 81.05 nm</p> 	<p>Tamaño de partícula: 81.47 nm</p> 
<b>Muestra sonicada en baño de hielo</b>		
<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>
<b>DTP (promedio)</b>		
<p>Tamaño de partícula: 86.06 nm</p> 	<p>Tamaño de partícula: 85.78 nm</p> 	<p>Tamaño de partícula: 86.35 nm</p> 

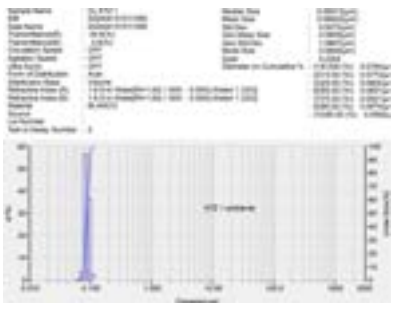
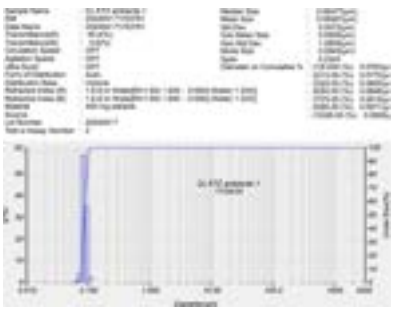
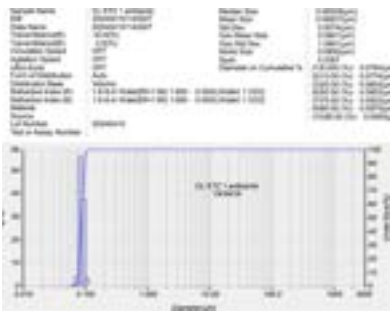
De acuerdo con los resultados obtenidos, las muestras placebo sometidas a una sonicación a temperatura ambiente, es decir, se le aplicaron dos ciclos de sonicación, en el día uno, se observaron segundas poblaciones, lo que podría indicar una falta de homogeneización, sin embargo para los días tres y cinco, esta población desapareció,

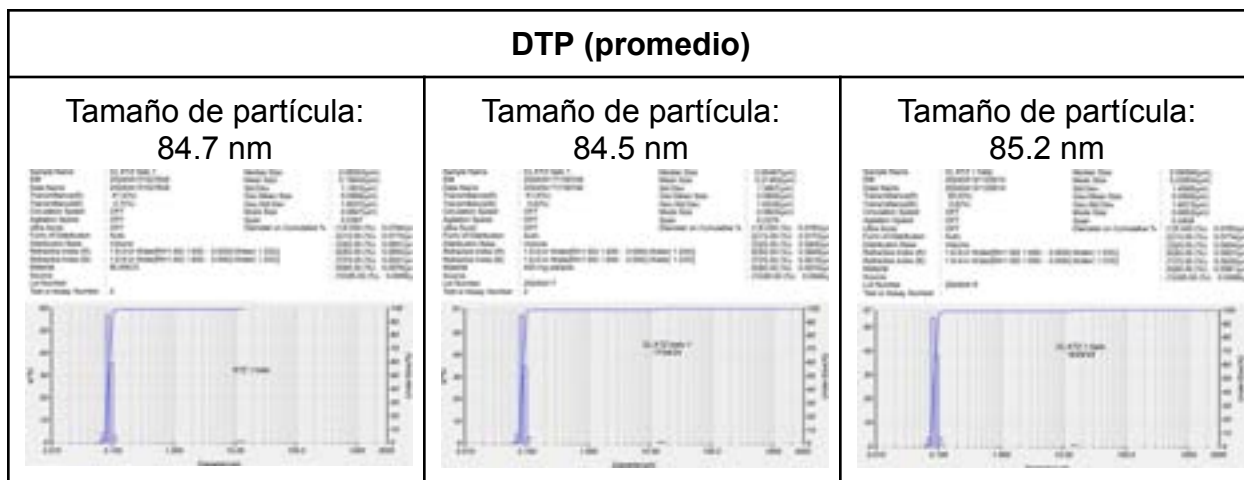
por lo que la muestra se estabilizó al pasar de los días, en cuanto a su aspecto, no se observó sedimento en el fondo o paredes de su frasco contenedor, por lo que mantuvo esa estabilidad y un tamaño de partícula dentro del intervalo establecido (80- 100 nm).

En cuanto a las muestras placebo sometidas a una sonicación en baño de hielo, es decir, que se le aplicaron cuatro ciclos de sonicación, desde el día uno, la muestra presentó un tamaño de partícula de 86.06 nm y se mantuvo al pasar los cinco días y no se observó la presencia de segundas poblaciones, sin embargo, como era de esperar, el halo de micropartículas negras se presencié en el fondo del frasco que la contenía, por lo que el desgaste fué una constante en la prueba ante la cantidad de ciclos.

En cuanto a las muestras cargadas con ketoconazol, los resultados de la distribución de tamaño de partícula (DTP), se presentan en la siguiente tabla (15).

**Tabla 15.** Resultados de la distribución de tamaño de partícula (DTP) obtenidos a partir de la prueba de estabilidad de muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol, sometidas a una agitación constante durante diez horas a 500 rpm, y dos diferentes condiciones de sonicación, a temperatura ambiente (20- 25 °C) y con baño de hielo (0 °C).

<b>Prueba de estabilidad durante cinco días a muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol</b>			
<b>Muestra sonicada a temperatura ambiente</b>			
<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	
<b>DTP (promedio)</b>			
<p>Tamaño de partícula: 86.22 nm</p> 	<p>Tamaño de partícula: 85.87 nm</p> 	<p>Tamaño de partícula: 86.37 nm</p> 	
<b>Muestra sonicada en baño de hielo</b>			
<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	



Conforme a los resultados obtenidos a partir de las muestras cargadas con ketoconazol, el tamaño de partícula de las muestras se encuentra dentro del intervalo establecido, manteniéndose cerca de los 80 nm durante los cinco días de la prueba, además, no se presencié la existencia de segundas poblaciones, en cuanto al aspecto físico de la muestra, se mantuvo de un color blanco-azulado y no se observó sedimento en el fondo o las paredes de su frasco contenedor, por lo que se podría distinguir como una muestra estable.

En cambio, las muestras que se sonicaron en un baño de hielo, desde el día uno presentaron segundas poblaciones, las cuales pueden atribuirse a las micropartículas negras que formaron un halo en el fondo del frasco que la contenía, cabe resaltar, que estas micropartículas son un tipo de sedimento móvil, por lo que pueden intervenir con la lectura, confirmando que el sonotrodo soporta únicamente dos ciclos de sonicación sin sufrir desgaste.

Dado que los resultados obtenidos abrieron un panorama en cuanto a las condiciones que fueron variadas y optimizadas, se procedió a realizar un diseño experimental, a manera de obtener un análisis estadístico para optimizar el método en general en las obtención de cristales líquidos, además, de que las muestras entren en contacto con los antioxidantes, para evitar la oxidación que presenta el fármaco.

## 6.5 Diseño experimental

Una vez establecidos los parámetros para la optimización de las condiciones de sonicación y homogeneización para la fabricación de cristales líquidos placebo y cargados con ketoconazol, se busca implementar antioxidantes con el objetivo de estabilizar al ketoconazol incluido en las dispersiones y evitar su oxidación, por lo que, se procedió a realizar un diseño experimental 2<sup>3</sup> para evaluar el efecto de tres variables en las dispersiones líquido cristalinas cargadas con ketoconazol e incluyendo antioxidantes como el butilhidroxitolueno (BHT) y el ácido ascórbico en combinación, para el diseño experimental, se evaluaron las siguientes variables, la combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico), a una concentración del 1 % o 3 %, el tiempo de agitación, durante 5 h o 10 h y por último, los ciclos de sonicación, donde se aplicarán dos o cuatro ciclos a las muestras, además por cada combinación de variables, se realizó un triplicado.

Para evaluar los resultados, se fijó como variables de respuesta, el matiz de color de la muestra, ya sea, rosa (muestra oxidada), o blanco-azulado (muestra no oxidada), la ausencia de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que almacena la muestra y por último, la distribución de tamaño de partícula (DTP), buscando una única población con un tamaño de partícula dentro del intervalo de 80-100 nm. Estas variables se describen mejor en la siguiente tabla (16).

**Tabla 16.** Variables de estudio consideradas en el diseño experimental diseñado para la optimización del proceso de elaboración de cristales líquidos cargados con ketoconazol y una combinación de los antioxidantes butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico, además, de las variables de respuesta a considerar para evaluar el comportamiento de las muestras.

<b>Variables de estudio</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Variable de respuesta</b>
Concentración de antioxidante (%)	Combinación de antioxidantes en un porcentaje:  1% 3%	matices de color:  rosa blanco-azulado
	Horas de agitación del sistema:	Ausencia de sedimento en el fondo

Tiempo de agitación	5 h 10 h	o las paredes del frasco que almacena la muestra
Ciclos de sonicación	Número de ciclos de sonicación por aplicar en la muestra:  2 4	Distribución de tamaño de partícula (DTP):  Única población con tamaño de partícula dentro del intervalo de 80-100 nn

Al establecer las variables a evaluar, el diseño experimental se desarrolló con ayuda del programa Minitab Statistical Software, el cual desarrolló un orden estadístico para la elaboración de cada muestra con el fin de asegurar aleatoriedad y las diferentes combinaciones de las variables que se le van a realizar a cada una, a continuación en la tabla 17, se muestran las variables de fabricación de cada muestra.

**Tabla 17.** Diseño experimental con la combinación de las variables, concentración de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico), horas de agitación y ciclos de sonicación para la obtención aleatoria de cristales líquidos cargados con ketoconazol.

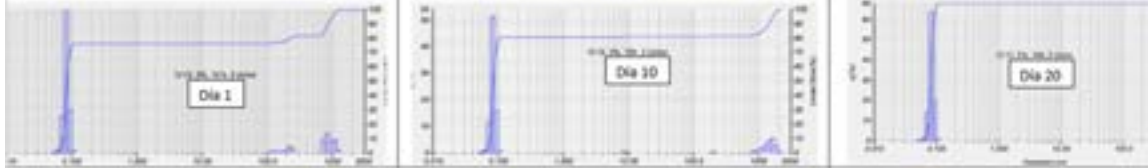
Orden Estadístico	Concentración total antioxidante (%)	Horas de agitación	Ciclos de sonicación
12	3	10	2
18	3	5	2
14	3	5	4
6	3	5	4
1	1	5	2
11	1	10	2
19	1	10	2
21	1	5	4
9	1	5	2
13	1	5	4
5	1	5	4
3	1	10	2
10	3	5	2
15	1	10	4
24	3	10	4
17	1	5	2

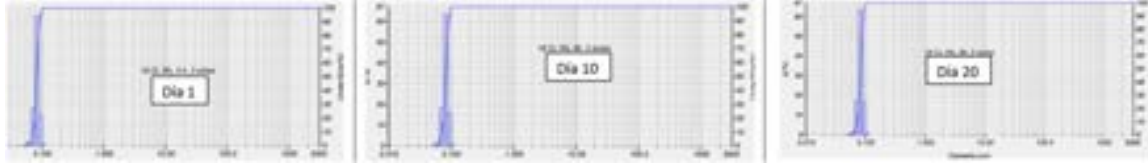
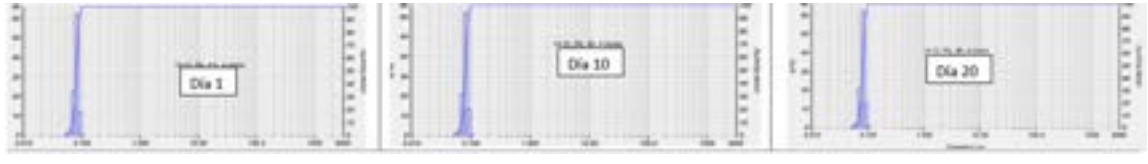

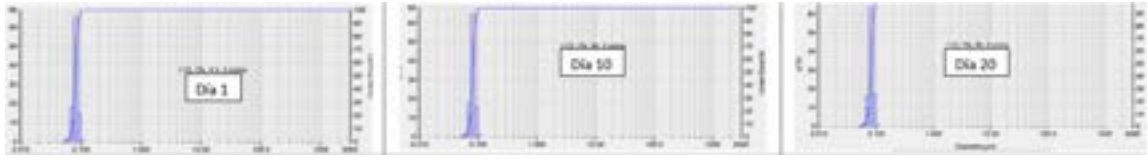

22	3	5	4
4	3	10	2
16	3	10	4
8	3	10	4
2	3	5	2
20	3	10	2
23	1	10	4
7	1	10	4




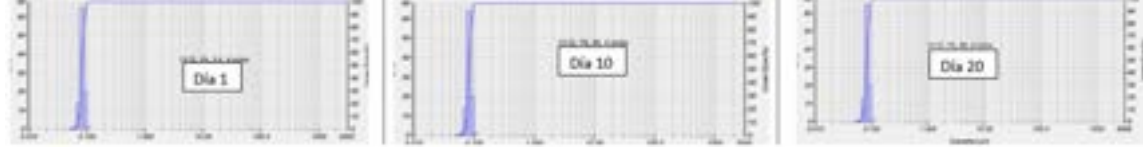

Al establecer el plan de trabajo, se procedió a fabricar cada una de las muestras del diseño experimental con sus respectivas variables, como se menciona en las variables de respuesta, se busca obtener muestras con, un matiz de color blanco-azulado (muestra no oxidada), ausencia de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que almacena la muestra y por último, la distribución de tamaño de partícula (DTP), buscando una única población con un tamaño de partícula dentro del intervalo de 80- 100 nm.

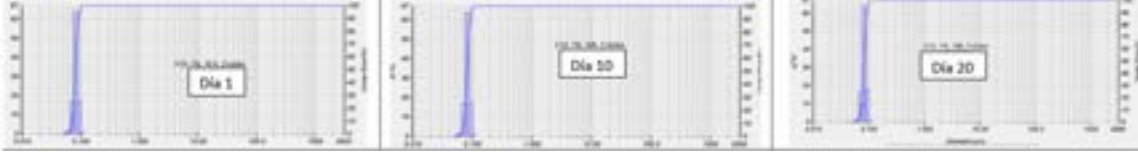

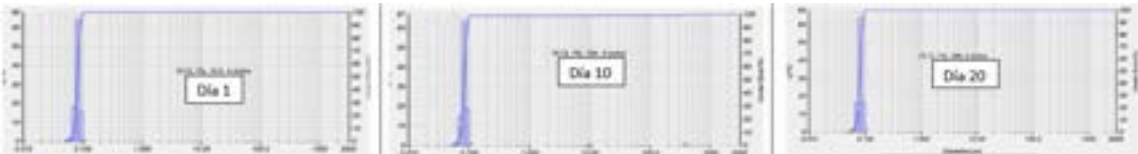
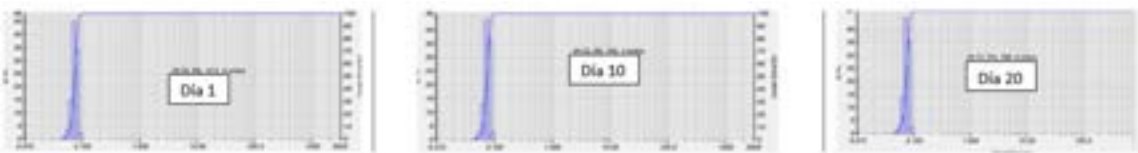

A continuación, en la tabla 18, se muestran los resultados obtenidos a partir de la distribución de tamaño de partícula de las muestras realizadas a partir del diseño experimental (DTP).

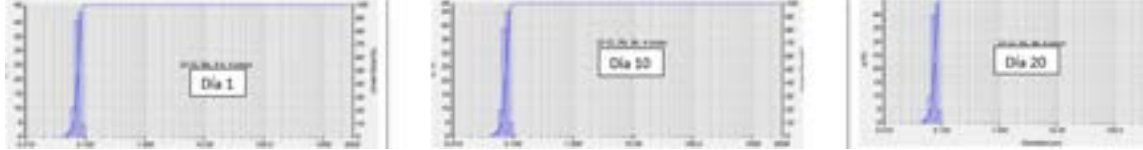

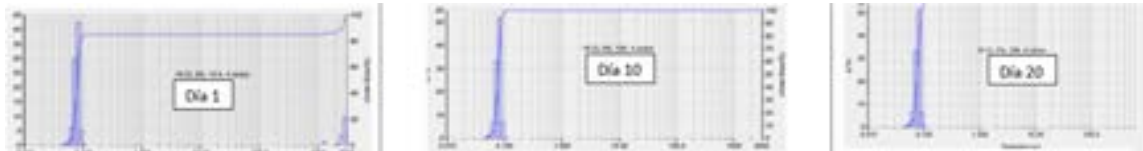


**Tabla 18.** Resultados obtenidos a partir del diseño experimental, evaluando la distribución de tamaño de partícula (DTP) de las muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol y antioxidante, observando su comportamiento durante veinte días.

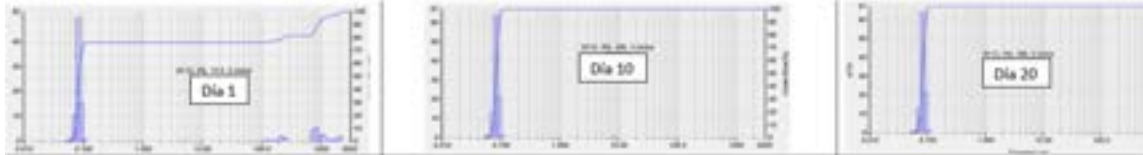
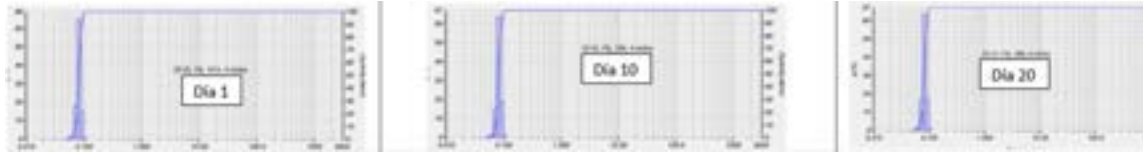
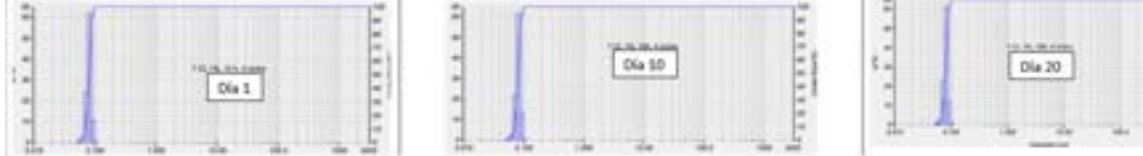
No. muestra	DTP (histograma)	DTP Día 20 (moda)
12	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b></li> <li>2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b></li> <li>3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></li> </ol>	82.42 nm

18	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	81.57 nm
14	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	80.51 nm
6	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	77.19 nm
1	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	81.82 nm
11	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	84.45 nm

19	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	84.14 nm
21	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	76.01 nm
9	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	86.38 nm
13	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	82.59 nm
5	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	82.35 nm

3	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	81.80 nm
10	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	85.80 nm
15	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	81.68 nm
24	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	73.55 nm
17	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	83.99 nm

22	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	75.39 nm
4	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	82.90 nm
16	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	77.18 nm
8	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></p>	80.64 nm
2	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <p>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>  2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b>  3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></p>	97.27 nm

20	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b></li> <li>2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b></li> <li>3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b></li> </ol>	82.73 nm
23	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b></li> <li>2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b></li> <li>3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></li> </ol>	81.80 nm
7	 <p style="text-align: center;"><b>Variables</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b></li> <li>2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b></li> <li>3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b></li> </ol>	80.17 nm













NOTA. Los resultados se presentan de acuerdo al orden estadístico establecido en el diseño experimental, además de utilizar el valor de la moda para describir el tamaño de partícula de las muestras, con la intención de no tomar en cuenta la alteración que este sufre debido a la presencia de segundas poblaciones.










De acuerdo con los resultados obtenidos, todas las muestras al cabo de los 20 días, se estabilizaron y mantuvieron un tamaño de partícula dentro del intervalo establecido de 80- 100 nm, a pesar de que algunas muestras en los primeros 10 días presentaban segundas poblaciones, como es el caso del triplicado de las muestras (12, 4, 20) las cuales fueron agitadas durante 10 h, se les aplicó dos ciclos de sonicación y tenían un porcentaje de antioxidantes del 3 %, también se incluyen dos muestras de otro triplicado (6, 22), las cuales fueron agitadas durante 5 h, se les aplicó cuatro ciclos de sonicación y tenían un porcentaje de antioxidantes del 3 %, la

muestra 15 también mostró este comportamiento, en este caso, la muestra fue agitada durante 10 h, se le aplicaron cuatro ciclos de sonicación y tenía un porcentaje de antioxidantes del 1 %, y por último las muestras pertenecientes a otro triplicado (16, 8), las cuales fueron agitadas durante 10 h, se les aplicó cuatro ciclos de sonicación y tenían un porcentaje de antioxidantes del 3 %. Por lo que las variables constantes entre todas las muestras mencionadas anteriormente fueron, una concentración del 3 %, una agitación de 10 h y 4 ciclos de sonicación. Sin embargo, dado que todas las muestras para el día 20 se homogeneizaron y terminaron mostrando una única población con un tamaño de partícula dentro de un intervalo de 80- 100 nm, se continuó analizando las demás variables de respuesta de la muestras, con el objetivo de obtener los parámetros más efectivos. A continuación, en la tabla 19 se muestran los resultados en cuanto al aspecto físico de las muestras analizadas, donde las variables de respuesta que se busca que cumplan, son un matiz de color blanco-azulado (muestra no oxidada) y ausencia de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que las almacena.

**Tabla 19.** Resultados obtenidos a partir del diseño experimental, evaluando el matiz de color de una de las muestras de cada triplicado, ya sea, rosa (muestra oxidada), o blanco-azulado (muestra no oxidada) y la presencia o no de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que almacena la muestra, observando su comportamiento durante veinte días.

<b>Muestras de cristales líquidos obtenidas a partir del diseño experimental</b>				
<b>No. muestra (triplicado)</b>	<b>Variabes</b>	<b>Aspecto físico (color y sedimento)</b>		
		<b>Día 1</b>	<b>Día 10</b>	<b>Día 20</b>
1, 9, 17	1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b>	No hay sedimento 	Sedimento en el fondo del frasco 	Sedimento en el fondo del frasco 
	1. Concentración de antioxidante:	No hay sedimento	Sedimento en el fondo del frasco	Sedimento en el fondo del frasco

2, 10, 18	<b>3 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b>			
3, 11, 19	1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b>	No hay sedimento 	No hay sedimento 	No hay sedimento 
4, 12, 20	1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>2 ciclos</b>	No hay sedimento 	No hay sedimento 	No hay sedimento 
5, 13, 21	1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b>	No hay sedimento 	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco. 	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco. 
	1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b>	No hay sedimento	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco.	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco.

6, 14, 22	2. Tiempo de agitación: <b>5 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b>			
7, 15, 23	1. Concentración de antioxidante: <b>1 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b>	No hay sedimento 	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco. 	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco. 
8, 16, 24	1. Concentración de antioxidante: <b>3 %</b> 2. Tiempo de agitación: <b>10 horas</b> 3. Ciclos de sonicación: <b>4 ciclos</b>	No hay sedimento 	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco. 	Presenta micropartículas negras en el fondo del frasco. 

NOTA. Se agruparon las muestras en relación a las sometidas a las mismas condiciones, dado que se elaboraron por triplicado de manera aleatoria.

Al observar los resultados obtenidos en cuanto al aspecto físico de las muestras, el objetivo principal era observar su tonalidad, buscando que presenten un color blanco-azulado ya que si se observa un tono rosa, es el indicativo de que una muestra está oxidada, además se busca que no se aprecie la presencia de sedimento en el fondo o las paredes del frasco que las almacenan, dado que indicaría una homogeneización deficiente. En el caso del primer triplicado, compuesto por las muestras 1, 9 y 17, se observa una coloración blanco azulada el primer día, sin embargo a partir del día diez se comenzó a observar un cambio de tonalidad a rosa

pálido, hasta observarse un tono rosa más fuerte al cabo de los veinte días, incluyendo la presencia de sedimento en el fondo del frasco, lo que indica una muestra oxidada y con una homogeneización deficiente. Para el segundo triplicado compuesto por las muestras 2, 10 y 18, presentan un color blanco-azulado el primer día, al cabo de diez días comenzó a cambiar a un color amarillento y a los veinte días se observó un tono salmón claro, además, presenta sedimento en el fondo del frasco, por lo que, la muestra comenzó a oxidarse a partir de los veinte días de su fabricación y presenta una homogeneización deficiente. En el caso del tercer triplicado compuesto por las muestras 3, 11 y 19, el primer día se observó de un color blanco-azulado, sin embargo, a los diez días comenzó a cambiar de color a un tono rosa pálido, y al cabo de veinte días se observó de un tono rosa fuerte, por lo que se oxidó, en este caso la muestra no presentó sedimento, asegurando una correcta homogeneización. En el cuarto triplicado, compuesto por las muestras 4, 12 y 20, se mostraron de un color blanco-azulado el primer día, después al pasar diez días, comenzó a cambiar a un color amarillento y al cabo de veinte días terminaron mostrando un tono salmón claro, por lo que se determinó que la muestra no se oxidó del todo al cabo de los veinte días, pero el cambio en el color indica un cambio en sus propiedades, en cuanto al sedimento, ninguna muestra del triplicado presentó sedimento, indicando una completa homogeneización de sus componentes. El quinto triplicado compuesto por las muestras 5, 13 y 21, las muestras el primer día se observaron de un color blanco-azulado, sin embargo al pasar los primeros diez días comenzaron a cambiar a un color rosa pálido y finalizaron con un tono rosa fuerte al pasar los veinte días de la evaluación, en cuanto al sedimento, no se observó presencia de este en ninguno de los frascos, sin embargo, se comenzaron a apreciar micropartículas negras en el fondo del frasco, por lo que, a pesar de que se homogeneizó correctamente, el número de ciclos bastó para que el sonotrodo sufriera desgaste y por lo tanto afectar al aspecto de la muestra. En el caso del sexto triplicado compuesto por las muestras 6, 14 y 22, las muestras mostraron un cambio de su color blanco-azulado al cabo de diez días, al cambiar a un tono amarillento, y al pasar los veinte días de la evaluación terminaron con un tono salmón claro, por lo que su oxidación comenzó al cabo de esos días, en el caso del sedimento, no se aprecia en ninguna muestra, sin embargo, como en el anterior caso, dado el

número de ciclos, el sonotrodo sufrió desgaste y se presentó en forma de micropartículas negras en el fondo del frasco, afectando en el aspecto de las muestras. Para el séptimo triplicado compuesto por las muestras 7, 15 y 23, al cabo de veinte días se mostraron oxidadas al cambiar su color blanco-azulado del primer día a un color rosa fuerte, además, no presentaron sedimento en los frascos que las almacenan, pero, como las anteriores muestras sonicadas con cuatro ciclos, se desgastó el sonotrodo y se presenciaron las micropartículas negras en el fondo del frasco, indicando una completa homogeneización, pero con ese defecto en la apariencia de las muestras. Por último, en el octavo triplicado compuesto por las muestras 8, 16 y 24, mantuvieron su color blanco-azulado, hasta alcanzar los diez días, que cambiaron a un tono amarillento, y al cabo de los veinte días, se mostraron con un color salmón claro, por lo que su oxidación comenzó a partir de esos días, en cuanto al sedimento, no se presentó en ningún frasco de las muestras, pero como todas las muestras con cuatro ciclos de sonicación, se presenció el desgaste del sonotrodo a través de las micropartículas negras que se encontraron en el fondo del frasco.

Como conclusión de los resultados obtenidos a partir del diseño experimental, dado que no hubo diferencia significativa en la distribución de tamaño de partícula que presenta cada una de ellas, se basaron los resultados en el aspecto físico, se determinó que las muestras con una concentración de antioxidantes al 1 %, al cabo de los primeros diez días, ya mostraban un cambio de coloración a un rosa claro, en cambio, las muestras con una concentración de antioxidantes al 3 %, en los primeros diez días apenas comenzaban a cambiar su tonalidad blanco-azulada a una un poco amarillenta, por lo que la concentración al 3 %, retrasa al menos diez días la oxidación del principio activo presente en las muestras. En cuanto a los ciclos de sonicación y el tiempo de agitación, las muestras que fueron sometidas a cinco horas de sonicación y dos ciclos de sonicación, presentaron sedimento en el fondo del frasco, por lo que, no se obtiene una completa homogeneización de los compuestos de las muestras, en cambio, las muestras agitadas a las mismas cinco horas, pero con cuatro ciclos de sonicación, no presentan este sedimento en el fondo del frasco, por lo que los ciclos podrían ayudar a esta completa integración final, sin embargo, al aplicar cuatro ciclos de sonicación, el sonotrodo utilizado sufre un desgaste, el cual se presenta en forma de

micropartículas negras que se aprecian en el fondo de los frascos que almacenan las muestras, las cuales no se observan en las muestras sonicadas con dos ciclos de sonicación. Mientras que cuando las muestras se agitaron durante diez horas y se sonicaron con cuatro ciclos, no se formó sedimento, sin embargo, como era de esperarse, se presentaron las micropartículas negras por el desgaste del sonotrodo, mientras que las muestras agitadas durante diez horas y sonicadas con dos ciclos, tampoco presentaron sedimento en los frascos que las contenían y dado que fueron sonicadas con dos ciclos, las micropartículas negras no se observaron en este caso.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se determinaron como parámetros para replicar:

- La concentración de antioxidante al 3 %, que fué la que retrasó el cambio en el color de las muestras a la tonalidad rosa.
- La agitación durante 10 h, dado que aseguró una completa incorporación de los componentes, al no presentar sedimento en el fondo o las paredes del frasco.
- En cuanto a la sonicación, aplicar dos ciclos porque permite obtener una distribución de tamaño de partícula (DTP) dentro del intervalo aceptado de los cristales líquidos (80- 100 nm) y sin ocasionar desgaste del sonotrodo, evitando la presencia de micropartículas negras, ocasionadas por este.

Una vez que se obtuvieron las condiciones óptimas para obtener cristales líquidos con las características establecidas, otro aspecto importante es el pH, el cual se establece debe tener un valor dentro de un intervalo de 6- 7, por lo que, se realizaron nuevas formulaciones, ya que, un objetivo de la investigación es probar a los antioxidantes en conjunto y de manera individual, así que, se formularon muestras de cristales líquidos con una combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico) a una concentración del 3 % y, muestras con los antioxidantes por separado en concentraciones del 1 % y 3 %, con el objetivo de observar cómo se comportan de manera individual y determinar si hay diferencias significativas.

## **6.6 Ajuste de pH de cristales líquidos cargados con ketoconazol y antioxidante**

Además de los parámetros establecidos para la obtención de cristales líquidos con

ketoconazol y antioxidantes, el pH es otro parámetro importante, el cual como ya se mencionó debe mantener un valor entre 6- 7 para asegurar la estabilidad del principio activo, en este caso, ketoconazol, por lo que, se realizó la medición del pH de las muestras obtenidas con el objetivo de evaluar el comportamiento de este ante los diferentes componentes de la muestra. A continuación en la siguiente tabla (20), se muestran los valores de pH analizados de las diferentes muestras obtenidas, muestras de cristales líquidos con una combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico) a una concentración del 3 % y muestras con los antioxidantes por separado en concentraciones del 1 % y 3 %.

**Tabla 20.** Determinación de pH de muestras de cristales líquidos placebo, muestras cargadas con ketoconazol sin antioxidantes y muestras cargadas con ketoconazol con una combinación de antioxidantes (butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico) a una concentración del 1 % y del 3%.

<b>Determinación de pH de cristales líquidos</b>	
<b>Composición de la muestra</b>	<b>pH</b>
Muestra placebo	4.00
Muestra con ketoconazol sin antioxidantes	6.00
Muestra con ketoconazol con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 1 %	4.00
Muestra con ketoconazol con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %	3.00

Con los resultados obtenidos, se observa como una muestra placebo mantiene un valor de pH de 4.00 aproximadamente, mientras que al momento de agregar el principio activo, ketoconazol, se nota un incremento de este valor, a un pH aproximado de 6.00, sin embargo, al momento de adicionar una combinación de antioxidantes de BHT y de ácido ascórbico, a una concentración del 1 % y del 3 %, las muestras bajan a un pH de 4.00 y de 3.00 respectivamente, por lo que, la adición de antioxidantes nos aleja del valor de pH que se busca mantener.

Como una solución para amortiguar este valor de pH de las formulaciones en un valor de 7.0 y evitar su fluctuación (3- 4), se preparó para el ajuste, una solución

amortiguadora 0.05 M de fosfatos pH 7.0 (fosfato monobásico de potasio- fosfato dibásico de potasio), de acuerdo con el procedimiento establecido por (FEUM, 2018).

Este ajuste de pH se realizó para las muestras preparadas con el método de preparación optimizado, el cual se utilizó para formular tanto muestras con una combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico) al 3 %, como en muestras con los antioxidantes por separado en concentraciones de 1 % y 3 %.

En la siguiente tabla (21), se muestran los resultados obtenidos a partir del ajuste de pH a 7.00 de las muestras de cristales líquidos a evaluar.

**Tabla 21.** Volumen de solución amortiguadora (SA) que requirió cada muestra de cristales líquidos, de acuerdo al tipo de antioxidante y concentración utilizados, para ajustar su valor de pH a 7.00.

<b>Ajuste de pH de cristales líquidos</b>				
<b>No. Muestra</b>	<b>Composición de la muestra en cuanto al, tipo de antioxidante y concentración (%)</b>	<b>pH inicial</b>	<b>SA (mL)</b>	<b>pH final</b>
1	ácido ascórbico 3 %	3.00	500	7.00
2	BHT 1 %	6.00	4.5	7.00
3	BHT 3 %	6.00	1.5	7.00
4	Combinación de antioxidantes 3 % (BHT + ácido ascórbico)	3.00	762.5	7.00

NOTA. El antioxidante de ácido ascórbico al 1 % no se contempló, ya que la muestra se oxidó a un día de su elaboración, por lo que se consideró como una muestra inestable.

Con los resultados obtenidos mediante la medición del pH, se logra observar que la muestra formulada con el antioxidante ácido ascórbico a una concentración del 3 %, disminuye el valor de pH que se tiene en una muestra cargada solo con el ketoconazol, que como se mencionó tiene un valor de pH de 6.00, y que que al adicionar este antioxidante, se obtiene un valor de pH de 3.00, mientras que en el caso de las muestras con el antioxidante BHT ya sea a una concentración del 1 % o 3 %, se mantiene en el mismo valor de pH de 6.00, por lo que, este antioxidante no afecta a la muestra inicial que contiene solo el principio activo, dado que el pH de la muestra que contiene una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una

concentración del 3 %, muestra un valor de pH de 3.00, se puede asimilar que este descenso de pH comparándolo con las muestras con ketoconazol con pH de 6.00, puede deberse a la presencia del ácido ascórbico en esta combinación.

Como parte de la evaluación de los antioxidantes, se buscó probar el método optimizado de fabricación tanto en formulaciones con una combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico) al 3 %, como en muestras con los antioxidantes por separado en concentraciones de 1 % y 3 %, a manera de conocer el comportamiento de las muestras ante los diferentes antioxidantes y las diferentes concentraciones aplicadas, se procedió a realizar una prueba de estabilidad, con el objetivo de determinar la opción más conveniente para mantener a la muestra estable y con las características deseadas.

### 6.7 Prueba de estabilidad

Con el pH amortiguado se realizó una prueba de estabilidad de un mes, con el objetivo de observar el comportamiento de las muestras, las condiciones a las que se sometieron las formulaciones, fueron a tres diferentes temperaturas; ambiente (20- 25 °C), refrigeración (2- 2.3 °C) y estufa (40 °C), en la siguiente tabla (22) se describen las muestras de cristales líquidos seleccionadas para someterse a la prueba de estabilidad.

**Tabla 22.** Características de las muestras de cristales líquidos sometidas a la prueba de estabilidad y las condiciones utilizadas.

<b>Muestras de cristales líquidos seleccionadas para la prueba de estabilidad</b>			
<b>Antioxidante utilizado</b>	<b>Concentración de antioxidante (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Condición (Temperatura)</b>
Combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico)	3 %	3	Ambiente (20- 25 °C)
		7	
		6	

BHT	1 %	7	Refrigeración (2- 2.3 °C)
BHT	3 %	6	
		7	Estufa (40 °C)
ácido ascórbico	3 %	3	
		7	

NOTA. El antioxidante de ácido ascórbico al 1 % no se contempló, ya que la muestra se oxidó a un día de su elaboración, por lo que se consideró como una muestra inestable.

Para evaluar el comportamiento de las muestras, se consideró, el valor del pH, considerando su estabilidad al pasar el mes de la prueba, el aspecto físico de las muestras, buscando se mantengan con una coloración, blanco-azulado y la distribución de tamaño de partícula (DTP) de cada muestra analizada, esperando se conserve el tamaño de partícula de las muestras dentro de un intervalo de 80- 100 nm.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la prueba de estabilidad, comparando los resultados obtenidos en su primer día de haberse fabricado, una semana después y al concluir el mes de la prueba de estabilidad.

En las tablas 23 y 24, se muestran los resultados obtenidos en cuanto al comportamiento de las muestras de cristales líquidos con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 % sometidas a la prueba de estabilidad.










**Tabla 23.** Análisis del comportamiento de las muestras de cristales líquidos con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP).










<b>Muestras con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) al 3 %</b>					
<b>DTP Día 0</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 semana</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 mes</b>	<b>pH</b>

<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 17,134.84 nm <b>Moda:</b> 69.8 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 1,453.82 nm <b>Moda:</b> 70.2 nm	6.93	<b>Promedio:</b> 1,894,672.61 nm <b>Moda:</b> 2,202,429.9 nm	6.85
<b>Promedio:</b> 81.76 nm <b>Moda:</b> 81.7 nm	3.27	<b>Promedio:</b> 79.75 nm <b>Moda:</b> 80.4 nm	3.25	<b>Promedio:</b> 80.61 nm <b>Moda:</b> 80.9 nm	3.17
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 79.81 nm <b>Moda:</b> 80.5 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 798.80 nm <b>Moda:</b> 73.9 nm	6.98	<b>Promedio:</b> 2,313.55 nm <b>Moda:</b> 78.7 nm	6.85
<b>Promedio:</b> 76.82 nm  <b>Moda:</b> 78.4 nm	3.27	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	3.26	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	3.18
<b>Estufa (40 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 81.86 nm <b>Moda:</b> 81.7 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 79.10 nm <b>Moda:</b> 70.3 nm	6.90	<b>Promedio:</b> 1,814,209.35 nm <b>Moda:</b> 2,157,393.3 nm	6.83
<b>Promedio:</b> 78.58 nm <b>Moda:</b> 79.6 nm	3.27	<b>Promedio:</b> 78.11 nm <b>Moda:</b> 79.4 nm	3.27	<b>Promedio:</b> 78.87 nm <b>Moda:</b> 79.8 nm	3.18

**Tabla 24.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después.

**Muestras con una combinación de antioxidantes  
(BHT + ácido ascórbico) al 3 %**

<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>			
<b>pH</b>	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
<b>7.00</b>			
<b>3.00</b>			
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>			
<b>pH</b>	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
<b>7.00</b>			

3.00			
<b>Estufa (40 °C)</b>			
pH	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
7.00			
3.00			

Al utilizar una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %, se puede observar como a temperatura ambiente (20- 25 °C), la distribución del tamaño de partícula en la muestra con el pH ajustado a 7.00, se mantuvo inestable durante el mes de prueba, mostrándose múltiples poblaciones y alterando drásticamente el tamaño de partícula de la muestra, en cuanto a su aspecto, se mantuvo completamente transparente, mientras que la muestra con el pH de 3.00,

mostró una distribución estable durante un mes y con un tamaño de partícula dentro del intervalo establecido de 80- 100 nm, en este caso el aspecto de la muestra se mantuvo en un color blanco-azulado y no se observó sedimento en el fondo o las paredes del frasco contenedor; en cuanto al pH, en ambos casos se mantuvo sin diferencias significativas durante el mes de la prueba.

Al someterlas a refrigeración, (2- 2.3 °C), la muestra con el pH ajustado a 7.00, el primer día mostró una moda de tamaño de partícula adecuado de 80.5 nm, pero al pasar una semana, el tamaño promedio de partícula cambió por la aparición de varias poblaciones y al pasar un mes, la muestra se desestabilizó aún mas al aumentar el tamaño de partícula de las poblaciones que aparecieron durante la primer semana de la prueba, en cuanto a su aspecto, la muestra presentó una coloración blanco-azulada ligeramente translúcida, por otro lado, la muestra con el pH de 3.00, el primer día mostró un valor de moda de tamaño de partícula de 78.4 nm, pero, al pasar una semana, la muestra en su aspecto físico, presentó sedimento y paso de un color blanco-azulado ligeramente translúcido a un color blanco con aspecto lechoso, volviéndose muy opaca, impidiendo así su análisis de distribución de tamaño de partícula durante el resto del mes de la prueba. Mientras que en ambos casos, el pH de ambas muestras no se vió con diferencias significativas al pasar el tiempo de la prueba.

En el caso de las muestras almacenadas en la estufa (40 °C), la muestra con el ajuste a pH de 7.00, durante la primer semana se mantuvo estable su tamaño de partícula dentro del intervalo establecido, pero al mes, la muestra se desestabilizó completamente y el tamaño de partícula se vió totalmente alterado mostrando un incremento que sobrepasó al tamaño aceptado, en cuanto a su color, se mantuvo completamente transparente todo el mes de la prueba. Mientras que la muestra con el pH de 3.00, mantuvo una distribución de tamaño de partícula estable durante el mes de prueba al mantenerse dentro del intervalo establecido, sin embargo, en cuanto a su aspecto, comenzó con un color blanco-azulado, pero al pasar una semana cambió su color a un tono amarillento y al pasar el mes, se observó de un tono rosa pálido, por lo que indica que la muestra está oxidada. En cuanto al pH, ambas muestras mantuvieron su valor sin diferencias significativas.

Por lo que en este caso con el uso de una combinación de antioxidantes (BHT + ácido ascórbico) a una concentración del 3 %, la muestra se va a mantener estable al ser almacenada a temperatura ambiente (20- 25 °C) y con un pH con un valor aproximadamente de 3.00.

A continuación, en las siguientes tablas (25 y 26), se analizan los resultados en cuanto al comportamiento de las muestras de cristales líquidos con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 1 % sometidas a la prueba de estabilidad.










**Tabla 25.** Análisis del comportamiento de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 1 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP).







<b>Muestras con antioxidante BHT al 1 %</b>					
<b>DTP Día 0</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 semana</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 mes</b>	<b>pH</b>
<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 24,662.70 nm <b>Moda:</b> 84.5 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 86.45 nm <b>Moda:</b> 85.1 nm	6.55	<b>Promedio:</b> 15,423.78 nm <b>Moda:</b> 85.5 nm	6.12
<b>Promedio:</b> 85.96 nm <b>Moda:</b> 84.6 nm	6.18	<b>Promedio:</b> 286.30 nm <b>Moda:</b> 82.9 nm	6.08	<b>Promedio:</b> 128.51 nm <b>Moda:</b> 88.3 nm	5.60
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 85.94 nm <b>Moda:</b> 84.6 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 87.46 nm <b>Moda:</b> 86.1 nm	6.88	<b>Promedio:</b> 87.35 nm <b>Moda:</b> 86.1 nm	6.65
<b>Promedio:</b> 86.41 nm <b>Moda:</b> 85.0 nm	6.35	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por	6.13	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por	4.76

		su aspecto blanco-lechoso.		su aspecto blanco-lechoso.	
<b>Estufa (40 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 86.03 nm <b>Moda:</b> 84.7 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 85.94 nm <b>Moda:</b> 84.6 nm	6.83	<b>Promedio:</b> 214.82 nm <b>Moda:</b> 85.0 nm	6.43
<b>Promedio:</b> 86.56 nm <b>Moda:</b> 85.2 nm	6.38	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	5.62	<b>Promedio:</b> 85.70 nm <b>Moda:</b> 84.4 nm	5.72

**Tabla 26.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 1 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después.

<b>Muestras con antioxidante BHT al 1 %</b>			
<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>			
<b>pH</b>	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
<b>7.00</b>			

6.00			
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>			
pH	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
7.00			
6.00			
<b>Estufa (40 °C)</b>			
pH	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>

7.00			
6.00			

Al observar las muestras con el antioxidante BHT a una concentración del 1 %, aquellas sometidas a temperatura ambiente (20- 25 °C) con un pH ajustado a un valor de 7.00, la distribución de tamaño de partícula se mantuvo con un valor de la moda dentro del intervalo establecido de 80- 100 nm, durante el mes de la prueba, en cuanto a su aspecto, durante el mes también mantuvo su color en un tono blanco-azulado sin la presencia de sedimento en el fondo o paredes del frasco contenedor.

De igual manera, la muestra con un valor de pH de 6.00, mantuvo su valor de moda de tamaño de partícula dentro del intervalo establecido y un aspecto de color blanco-azulado durante toda la experimentación y sin ningún tipo de sedimento. En cuanto al pH ambos mantuvieron un valor estable sin diferencias significativas.

Al almacenarlas en refrigeración (2- 2.3 °C), la muestra con el pH ajustado a un valor de 7.00, mantuvo un valor de distribución de tamaño de partícula (DTP) dentro del intervalo establecido durante el mes de la prueba, en cuanto a su aspecto, mantuvo un tono blanco-azulado ligeramente translúcida y su pH se mantuvo sin diferencias significativas. Mientras que la muestra con un pH de 6.00 en su primer día, mostró un valor de tamaño de partícula aceptable con una moda de 85.0 nm, encontrándose

dentro del intervalo del valor establecido como aceptable, pero, a partir del paso de una semana, cambió su tono blanco-azulado por un tono totalmente blanco con aspecto lechoso, lo que la volvió muy opaca y ya no se pudo analizar su distribución de tamaño de partícula, a pesar de que al mes se volvió mas transparente, siguió sin poder analizarse en el equipo su DTP, en cuanto a su valor de pH, en la primer semana se mantuvo estable, pero al cabo de un mes tuvo un descenso significativo de 6.00 a un valor de 4.00.

En cuanto a las muestras almacenadas en la estufa (40 °C), la muestra con el pH ajustado a 7.00, mantuvo un tamaño de partícula con el valor dentro del intervalo aceptado durante el mes de prueba, así como un aspecto de color blanco-azulado ligeramente translúcida, por otro lado, la muestra con el valor de pH 6.00 en su primera lectura de DTP. mostró una moda de tamaño de partícula de 85.2 nm, mientras que al cabo de una semana, la muestra se volvió de un tono blanco con aspecto lechoso y se volvió opaca, impidiendo analizar su DTP, después al pasar un mes, la muestra se volvió ligeramente translúcida y fue posible analizarla nuevamente, mostrando un valor de la moda de 84.4 nm. En ambos casos el pH se mantuvo con valores sin diferencias significativas.

Por lo que las muestras con el antioxidante BHT a una concentración del 1 % con el pH ajustado a 7.00 mostraron mejores resultados, los cuales se mantuvieron, ante las tres diferentes temperaturas que se utilizaron para almacenar a las muestras durante la prueba de estabilidad.







A continuación, en las siguientes tablas (27 y 28), se analizan los resultados en cuanto al comportamiento de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 3 % sometidas a la prueba de estabilidad.







**Tabla 27.** Análisis del comportamiento de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP).

<b>Muestras con antioxidante BHT al 3 %</b>					
<b>DTP Día 0</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 semana</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 mes</b>	<b>pH</b>
<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 85.90 nm <b>Moda:</b> 84.6 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 85.94 nm <b>Moda:</b> 84.6 nm	6.81	<b>Promedio:</b> 123.88 nm <b>Moda:</b> 84.8 nm	6.47
<b>Promedio:</b> 84.07 nm  <b>Moda:</b> 83.1 nm	6.42	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	5.80	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	5.68
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 85.85 nm  <b>Moda:</b> 84.5 nm	7.00	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	6.94	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	6.76
<b>Promedio:</b> 87.12 nm  <b>Moda:</b> 85.8 nm	6.48	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	6.81	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	7.06
<b>Estufa (40 °C)</b>					







<b>Promedio:</b> 18,995.11 nm <b>Moda:</b> 84.5 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 85.55 nm <b>Moda:</b> 84.3 nm	6.69	<b>Promedio:</b> 85.84 nm <b>Moda:</b> 84.5 nm	6.76
<b>Promedio:</b> 86.75 nm <b>Moda:</b> 85.5 nm	6.23	<b>Promedio:</b> 85.18 nm <b>Moda:</b> 84.0 nm	5.81	<b>Promedio:</b> 85.96 nm <b>Moda:</b> 84.6 nm	5.57

**Tabla 28.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con el antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después.

<b>Muestras con antioxidante BHT al 3 %</b>			
<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>			
<b>pH</b>	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
<b>7.00</b>			
<b>6.00</b>			
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>			
<b>Aspecto físico</b>			

pH	Día 0	1 semana	1 mes
7.00			
6.00			

**Estufa (40 °C)**

pH	Aspecto físico		
	Día 0	1 semana	1 mes
7.00			
6.00			

En cuanto a las muestras con el antioxidante BHT con una concentración del 3 %, las almacenadas a temperatura ambiente (20- 25 °C), con un pH ajustado a 7.00, mantuvieron su valor de distribución de tamaño de partícula (DTP) con una moda dentro del intervalo establecido de 80- 100 nm, en cuanto a su aspecto físico, durante el mes de la prueba se observó un color blanco-azulado sin sedimento en el fondo o las paredes del frasco contenedor. Mientras que las muestras con un pH de 6.00, en su primera lectura de DTP, mostró un valor de moda de 83.1 nm, pero al pasar una semana, la muestra cambió su tono blanco-azulado a un color blanco lechoso y se volvió completamente opaca por lo que se vió impedido continuar analizando su tamaño de partícula. Para ambos casos el pH se mantuvo estable sin diferencias significativas.

Las muestras sometidas a refrigeración (2- 2.3 °C), tanto la muestra con un valor de pH ajustado a 7.00 y la muestra con pH de 6.00, en el primer día mostraron un valor de distribución de tamaño de partícula (DTP) aceptado dentro del intervalo, siendo estos valores de moda de 84.5 nm y 85.8 nm respectivamente, sin embargo, ambas al cabo de una semana cambiaron su coloración blanco-azuladas a un tono blanco lechoso y se volvieron completamente opacas por lo que no se pudo continuar con su analisis de DTP.

En cuanto al pH, la muestra con el pH ajustado a 7.00 se mantuvo sin presentar diferencias significativas, mientras que en el caso de la muestra con un pH de 6.00, al pasar de los días se vió que comenzó a incrementar exponencialmente el valor, hasta que, al cabo del mes de la prueba, este finalizó con un valor de pH de 7.06.

En el caso de las muestras almacenadas en estufa (40 °C), tanto la muestra con el pH ajustado a 7.00 y la muestra con el pH de 6.00, mantuvieron un valor de distribución de tamaño de partícula durante el mes de la prueba con un valor dentro del intervalo de 80- 100 nm, el cual es el indicado como aceptable, en cuanto al aspecto físico de ambas, presentaron un color blanco-azulado y no se presenció sedimento en el fondo o paredes de los frascos que las almacenan; de igual manera, los valores de pH se mantuvieron sin diferencias significativas.

Por lo que las muestras con el pH ajustado a 7.00 y almacenadas a temperatura ambiente y en estufa, fueron las que presentaron mejores resultados de estabilidad.







A continuación, en las siguientes tablas (29 y 30), se analizan los resultados en cuanto al comportamiento de las muestras con el antioxidante ácido ascórbico a una concentración del 3 % sometidas a la prueba de estabilidad.













**Tabla 29.** Análisis del comportamiento de las muestras con el antioxidante ácido ascórbico a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después; considerando, el valor del pH y la distribución de tamaño de partícula (DTP).

<b>Muestras con antioxidante ácido ascórbico al 3 %</b>					
<b>DTP Día 0</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 semana</b>	<b>pH</b>	<b>DTP 1 mes</b>	<b>pH</b>
<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 706.04 nm <b>Moda:</b> 69.5 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 69.90 nm <b>Moda:</b> 69.9 nm	6.85	<b>Promedio:</b> 2,223,562.01 nm <b>Moda:</b> 2,199,798.6 nm	6.75
<b>Promedio:</b> 4,367.15 nm <b>Moda:</b> 4,176.7 nm	3.36	<b>Promedio:</b> 79.75 nm <b>Moda:</b> 80.4 nm	3.27	<b>Promedio:</b> 79.88 nm <b>Moda:</b> 80.5 nm	3.19
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>					
<b>Promedio:</b> 11,963.35 nm <b>Moda:</b> 69.7 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 96.53 nm <b>Moda:</b> 94.7 nm	6.86	<b>Promedio:</b> 97.18 nm <b>Moda:</b> 95.1 nm	6.80
<b>Promedio:</b> 76.82 nm <b>Moda:</b> 78.4 nm	3.30	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	3.28	La muestra no se analizó debido a que no presentó la transmitancia mínima requerida para analizar, por su aspecto blanco-lechoso.	3.19
<b>Estufa (40 °C)</b>					

<b>Promedio:</b> 29,268.23 nm <b>Moda:</b> 69.5 nm	7.00	<b>Promedio:</b> 1,046.79 nm <b>Moda:</b> 69.9 nm	6.80	<b>Promedio:</b> 1,396,196.66 nm <b>Moda:</b> 2,664,689.9 nm	6.74
<b>Promedio:</b> 78.66 nm <b>Moda:</b> 79.7 nm	3.39	<b>Promedio:</b> 79.03 nm <b>Moda:</b> 79.9 nm	3.33	<b>Promedio:</b> 379,743.13 nm <b>Moda:</b> 80.4 nm	3.22

**Tabla 30.** Análisis del aspecto físico (color) de las muestras con el antioxidante ácido ascórbico a una concentración del 3 %, sometidas a la prueba de estabilidad, observadas a partir del día uno, una semana y un mes después.

<b>Muestras con antioxidante ácido ascórbico al 3 %</b>			
<b>Temperatura ambiente (20- 25 °C)</b>			
<b>pH</b>	<b>Aspecto físico</b>		
	<b>Día 0</b>	<b>1 semana</b>	<b>1 mes</b>
<b>7.00</b>			
<b>3.00</b>			
<b>Refrigeración (2- 2.3 °C)</b>			
<b>Aspecto físico</b>			

pH	Día 0	1 semana	1 mes
7.00			
3.00			
<b>Estufa (40 °C)</b>			
pH	Aspecto físico		
	Día 0	1 semana	1 mes
7.00			
3.00			

Para las muestras en las que se utilizó el antioxidante ácido ascórbico con una concentración del 3 %, aquellas almacenadas a temperatura ambiente (20- 25 °C), la muestra con un pH ajustado a 7.00, mostró un comportamiento estable durante una semana en su distribución de tamaño de partícula (DTP) ya que se mantuvo dentro del intervalo de 80- 100 nm, sin embargo al cabo de un mes, la muestra se desestabilizó y su tamaño de partícula cambió drásticamente, en cuanto a su aspecto físico, la primer semana se observó completamente transparente y al finalizar el mes de la prueba, se cambió a un tono amarillento y conservando su transparencia, por lo que, se podría atribuir a una posible oxidación del principio activo. En cuanto a la muestra con un pH de 3.00, en su primer día se mostró con gran polidispersidad y un tamaño de partícula que sobrepasa significativamente el valor establecido, pero, a partir de la primer semana, se estabilizó y se observó un tamaño de partícula con un moda de 80.4 nm, la cual se mantuvo hasta finalizar el mes de la prueba, en cuanto a su aspecto, se mantuvo con un tono blanco-azulado sin la presencia de sedimento en las paredes o el fondo del frasco. En ambos casos, el valor de pH se mantuvo sin observarse diferencias significativas durante el mes de la prueba de estabilidad.

Por otro lado las muestras almacenadas en refrigeración (2- 2.3 °C), para la muestra con el pH ajustado a 7.00, el primer día mostró en su análisis de DTP la presencia de segundas poblaciones, pero, al pasar una semana se estabilizó y su tamaño de partícula se mantuvo con una moda de 94.7 nm, continuando así hasta el mes del análisis, sin embargo, en cuanto a su aspecto, comenzó con un color blanco-azulado, pero, al cabo de una semana comenzó a verse de un tono amarillento y así se mantuvo hasta finalizar la prueba, por lo que se atribuye a la posible oxidación de la muestra. En cuanto a la muestra con el pH de 3.00, el primer día mostró un valor aceptable de tamaño de partícula con una moda de 78.4 nm, pero, al cabo de una semana, cambió su coloración blanco-azulado a una muestra blanca con aspecto lechoso y opaco, aunque al mes volvió a tornarse un poco mas translúcida, no fue lo suficiente para poder continuar con su analisis de DTP. Mientras tanto, el pH de ambas muestras se mantuvo durante el mes de la prueba sin presentar diferencias significativas.

En cuanto a las muestras almacenadas en estufa (40 °C), en el caso de la muestra con el pH ajustado a 7.00, al principio mostró una distribución de tamaño de partícula (DTP) inestable al observarse la presencia de segundas poblaciones, lo cual no se observó al pasar una semana, pero al concluir el mes de la prueba, se volvieron a presentar las segundas poblaciones pero esta vez con mayor tamaño y polidispersidad, en cuanto al aspecto físico, se mantuvo completamente transparente y no se observó un cambio en la coloración. En el caso de la muestra con el pH de 3.00, su DTP se mantuvo estable durante la primer semana, pero, al finalizar el mes de la prueba, la muestra se desestabilizó y el tamaño cambió al observarse la presencia de segundas poblaciones, sin embargo, en cuanto a su aspecto físico, a un día de su exposición a la temperatura de la estufa, la muestra cambió su color blanco-azulado a un tono rosa pálido y así se mantuvo hasta finalizar el mes de la prueba, por lo que se piensa que la muestra comenzó a oxidarse rápidamente desde su primera exposición al ambiente de la estufa. En cuanto al pH, ambas muestras lo mantuvieron durante toda la prueba sin presentar diferencias significativas.

Por lo que, en cuanto a los resultados, las muestras almacenadas a temperatura ambiente y en estufa, con un valor de pH de 3.00 fueron las que se mostraron más favorables con respecto a sus resultados al evaluar su estabilidad durante un mes.

Sin embargo, con fines de la investigación, la muestra que contiene BHT con una concentración del 1 % y un pH de 7.00, se eligió como la mejor opción para estabilizar a los cristales líquidos cargados con ketoconazol y mantener al principio activo estable ya que fué la que presentó el mejor comportamiento durante la prueba de estabilidad, en comparación con las otras muestras en las tres diferentes temperaturas, manteniendo un valor de pH cercano al inicial de 7.00 y un tamaño de partícula dentro del intervalo impuesto (80- 100 nm).

Por último, se evaluó la capacidad antioxidante del BHT y del ácido ascórbico mediante el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), buscando los siguientes efectos:

- El cambio de color del DPPH que en metanol es de color morado intenso y que al reaccionar con un antioxidante cambia a color amarillo.
- La linealidad de la inhibición del DPPH mediante una curva de calibración, la cual se mide a una longitud de onda de 517 nm.

Para indicar el porcentaje de captación de DPPH que se relaciona con el cambio de color púrpura a color amarillo cuando se agrega un compuesto antioxidante, se utiliza la siguiente fórmula, donde (A), es la absorbencia:

$$\% \text{ de Captación DPPH} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100$$

En la tabla 31, se presentan las condiciones que se establecieron para realizar la curva de calibración.

**Tabla 31.** Condiciones y parámetros requeridos para realizar la curva de calibración para la prueba de DPPH.

Puntos de la curva [mg/mL]	Alícuota (µL)	Soluciones	Concentración	Aforo	Blanco
50	5000	Solución stock DPPH	1.3 mg/ mL	5 mL	Metanol
30	3000				
20	2000				
15	1500	Solución antioxidante (ácido ascórbico)	50 µg/ mL		
10	1000				
5	500				

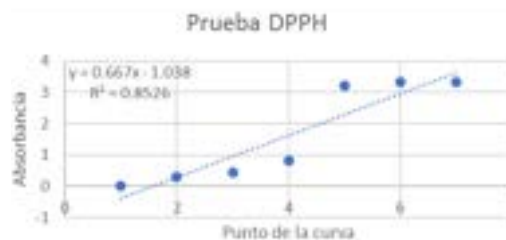
Los resultados obtenidos a partir de la curva se presentan a continuación en la tabla 32.

**Tabla 32.** Resultados obtenidos en el espectrofotómetro a partir de la curva de DPPH, así como los porcentajes de inhibición de cada punto de la curva.

No. lectura	Puntos de la curva [μL]	Absorbencia	(%) Inhibición
1	5000	0.008	99.76
2	3000	0.311	90.61
3	2000	0.448	86.47
4	1500	0.806	75.66
5	1000	3.125	2.9
6	500	3.311	0
7	Control (DPPH)	3.311	0



Curva de calibración, del punto de la curva menos concentrado de antioxidante, al más concentrado, notándose su efecto de inhibición ante la decoloración del DPPH.



Absorbencias graficadas en Excel  
 $R^2 = 0.8526$

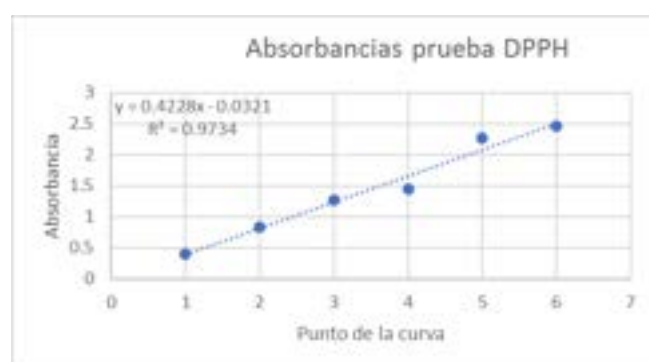
Como se esperaba, hubo cambio en la coloración de los puntos de la curva al entrar en contacto el DPPH con el antioxidante, sin embargo, no se observa linealidad en la curva, por lo que se procedió a elegir el punto con la absorbencia más cercana a 1 y, a partir de ahí crear nuevos puntos, con el objetivo de encontrar absorbencias menores y por lo tanto linealidad en la curva, en este caso, ese punto es el número cuatro con una absorbencia de 0.806. En la tabla 33 se muestran los nuevos puntos de la curva.

**Tabla 33.** Curva de calibración creada a partir del punto con la concentración de 1500  $\mu\text{L}$ , con una absorbancia de 0.806, además del porcentaje de inhibición de cada punto.

No. lectura	Puntos de la curva [ $\mu\text{L}$ ]	Absorbancia	(%) Inhibición
1	4000	0.401	87.8
2	3000	0.836	74.7
3	2000	1.271	61.6
4	1800	1.443	56.4
5	1600	2.270	31.4
6	1500	2.466	25.5
7	Control (DPPH)	3.311	0



Curva de calibración, del punto de la curva más concentrado de antioxidante, al menos concentrado.



Absorbancias graficadas en Excel  $R^2 = 0.9734$

Con base en los resultados obtenidos, se observa inconsistencia en los puntos de la curva, ya que hubo un incremento en la absorbancia del punto de referencia (1500  $\mu\text{L}$ ), al pasar de una absorbancia de 0.806 a una de 2.466 y un descenso en el porcentaje de inhibición, pasando de 75.66 % a 25.5 %.

Adicionalmente, se observa un cambio en la coloración de las muestras, las cuales son de un tono amarillo más oscuro en comparación a la curva anterior. Por lo que, para esta investigación, la prueba se descartó, debido a la falta de estabilidad de la muestra y la inconsistencia en los resultados de los puntos de la curva, ya que al realizar la repetibilidad de los mismos puntos, no se obtuvo el mismo tono de amarillo y la

absorbencia tuvo un incremento significativo.

Dado que el objetivo que se esperaba alcanzar consistía en obtener resultados con linealidad y exactitud es que se sugerirá para futuras investigaciones, establecer métodos para determinar la capacidad antioxidante del ácido ascórbico y del butilhidroxitolueno (BHT).

## 7. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los cristales líquidos obtenidos mediante el método establecido por el Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada de la UAM-Xochimilco, presentan características como, un tamaño de partícula con un promedio de 97.91 nm, el cual se encuentra dentro del intervalo establecido como adecuado para un sistema de cristales líquidos, tal como lo mencionan Kim et al., 2016. Sin embargo, en el mismo gráfico obtenido a partir del análisis de tamaño de partícula, se logra apreciar una distribución de tamaño amplia, lo que indica una muestra polidispersa, es decir, que las moléculas que componen la muestra tienen diferentes tamaños (Evans et al., 2011).

Dado que se espera obtener una muestra de cristales líquidos monodispersa para asegurar un único tamaño de partícula, de acuerdo con lo mencionado por Xiang et al., 2024, la sonicación es una técnica utilizada debido a su capacidad de mejorar la morfología y regular el tamaño de las partículas, la importancia de esta técnica se visualiza en los resultados presentados en la tabla 4, donde la muestra de cristales líquidos que no se sometió a sonicación, presenta desorden en su distribución de tamaño de partícula, además de un tamaño de partícula promedio de 134,437.3 nm, lo cual sobrepasa por mucho el valor establecido de 80- 100 nm, mientras que, la muestra a la que se le aplicó sonicación, presenta un tamaño de partícula estrecho, confirmando la obtención de una muestra monodispersa, además, de un tamaño de partícula promedio de 87.29 nm, cabe mencionar que la sonicación logra este efecto de disminución de polidispersidad y de tamaño de partícula, ya que, como lo explica Mhaske, 2011, la sonicación es una onda de presión sonora oscilante, que cuando es aplicada a un sistema líquido, el cambio de presión provoca la reducción del tamaño de las partículas; de esta manera, se confirma lo reportado por Csiszar et al., 2016, el cual menciona que al aplicar incluso una ultrasonificación corta de un minuto, puede reducir significativamente el tamaño de los agregados y por lo tanto disminuir el tamaño de partícula.

Además, en cuanto al aspecto físico, la muestra no sonicada se muestra totalmente opaca con un aspecto lechoso, mientras que la muestra a la que se le aplicó sonicación, se observa ligeramente opalescente vista a contraluz, Abrial et al., 2020

menciona que una muestra con sonicación cambia su grado de transparencia debido a que ocurre un cambio en la orientación de la cadena molecular, además, Csiszar et al., 2016 también menciona que el tratamiento con ultrasonidos da como resultado muestras menos opacas con un color blanco grisáceo, debido a que una muestra que no ha sido sonicada, no es homogénea y por lo tanto, presenta agregados lo suficientemente grandes como para interferir con la luz visible, resultando en una apariencia turbia.

De acuerdo con Nugroho et al., 2023, la sonicación depende de tres parámetros principales, que se convierten en los parámetros más críticos que deben controlarse durante el proceso, los cuales son, el tiempo de ultrasonicación, es decir, el tiempo de duración de cada ciclo, así como el número de estos aplicados, otro parámetro es la amplitud, la cual es altura máxima de una onda, haciendo referencia a la intensidad del sonido y por último, la potencia (o energía), que es la cantidad de energía transferida por la vibración, la cual se mide en Watts (W). Por lo que, a manera de optimizar las condiciones iniciales de sonicación, estos parámetros fueron tomados en cuenta, como se presenta en la tabla 5, se aplicaron diferentes condiciones de sonicación a muestras de cristales líquidos para determinar las que brinden mejores resultados, en la tabla se observa que la muestra que presentó los mejores resultados, fue la muestra 6, a la cual se le aplicaron las siguientes condiciones de sonicación, una amplitud de 80 %, ciclos al 100 % y dos ciclos de sonicación con una duración de dos minutos cada uno, lo cual, resultó en un tamaño de partícula promedio de 77.23 nm, una polidispersidad amplia y en cuanto a los ciclos de sonicación, se observó que entre cada ciclo, la muestra aumentó drásticamente de temperatura (aproximadamente 20 °C) entre cada ciclo, que de acuerdo con Xiang et al., 2024 y Abrial et al., 2020, es un comportamiento común observar un aumento de la temperatura inicial después de aplicar sonicación, a pesar de este incremento de temperatura, no se alcanzaron los 60 °C, temperatura a la cual, según Mhaske 2011, es la temperatura a la que el ketoconazol comienza a sufrir oxidación.

En cuanto al aspecto físico (color), los cristales líquidos cargados con ketoconazol, deben presentar, de acuerdo con Mhaske, 2011, un color blanco-azulado y ser

ligeramente translúcidas, ya que, si el fármaco se oxida, se va a apreciar de manera física, por que ocurre un cambio de color a un tono rosa, esto se puede apreciar en la tabla 8, donde la muestra de cristales líquidos cargados con ketoconazol después de cinco días de su fabricación, se observó un cambio de su color inicial a un tono salmón claro, que aunque no es precisamente rosa (color que indica oxidación del ketoconazol), nos indica una muestra poco estable.

Debido a estos resultados, se buscó evitar el drástico incremento de temperatura y por lo tanto, tratar de evitar la oxidación del ketoconazol contenido en las muestras de cristales líquidos, esto se realizó al analizar muestras de cristales líquidos cargados con ketoconazol y observar su comportamiento ante diferentes condiciones de temperatura, las cuales fueron a temperatura ambiente (20- 25 °C) y en un baño de hielo (0 °C), y así, determinar su comportamiento con base en el incremento de temperatura entre cada ciclo de sonicación y en su distribución de tamaño de partícula (DTP).

Los resultados observados en la tabla 9, muestran que una sonicación a temperatura ambiente requiere dos ciclos de sonicación antes de alcanzar los 60 °C (temperatura a la que comienza la oxidación del ketoconazol) y obtener un tamaño de partícula promedio de 97.91 nm, mientras que una muestra sonicada en un baño de hielo, requiere cuatro ciclos de sonicación para reportar un tamaño de partícula promedio de 81.56 nm, es decir, al controlar la temperatura mediante un baño de hielo, la muestra requiere de mas ciclos de sonicación para llegar a ese valor de tamaño de partícula, que de acuerdo a lo reportado por Abral et al., 2020 y Csiszar et al., 2016, a partir de que la sonicación dura más de 7.5 minutos, da como resultado un efecto significativo, el cual es un aumento en la resistencia a la tracción, es decir, la muestra va a ser menos susceptible a romperse o degradarse y podría soportar más durante procesos como en este caso, la sonicación.

Además Xiang et al., 2024 establece que al aumentar la energía ultrasónica, se puede ocasionar corrosión o desgaste del equipo ultrasónico, lo cual se observa en los resultados obtenidos en la tabla 11, donde la muestra de cristales líquidos sonicada en baño de hielo, es decir, sometida a cuatro ciclos de sonicación, al poco tiempo de la finalización de la prueba, presentó un halo de micropartículas negras en el fondo del

frasco, lo que se puede intuir está asociado a un desgaste del sonotrodo. Por lo que, se establecieron las condiciones de sonicación utilizadas en la muestra a temperatura ambiente para replicar.

Por otro lado, se continuó con el objetivo de optimizar la homogeneización de los componentes de la muestra para obtener un tamaño de partícula adecuado y poca polidispersidad, ya que, la distribución de tamaño amplia se continuó observando y, además, se buscó evitar la presencia de sedimento en el fondo o las paredes de los frascos, tales resultados se observan en la tabla 13, donde después de diez horas de agitación, la muestra de cristales líquidos cargada con ketoconazol presentó un tamaño de partícula con un promedio de 84.81 nm y una distribución monodispersa, indicando que los componentes de la muestra se encuentran completamente homogeneizados y presentan un mismo valor en su tamaño.

Como lo establece Losada-Barreiro et al., 2022, el uso de antioxidantes en la formulación de productos farmacéuticos desempeña un papel vital como mecanismo de conservación, ya que son utilizados para prevenir la oxidación de fármacos, por lo que, se realizó un diseño experimental con el objetivo de optimizar las condiciones en general del proceso de obtención de cristales líquidos cargados con ketoconazol, incluyendo además, una combinación de dos antioxidantes que Hejri et al., 2019 menciona son eficaces al trabajar en conjunto (BHT y ácido ascórbico), tal diseño se encuentra descrito en el apartado 6.5, donde, una vez ejecutado, con base en los resultados obtenidos, se determinaron como parámetros para replicar, la concentración de antioxidante al 3 %, ya que fue la que retrasó el cambio en el color de las muestras a la tonalidad rosa, una agitación durante 10 h y, en cuanto a la sonicación, aplicar dos ciclos para obtener una distribución de tamaño de partícula (DTP) dentro del intervalo aceptado de los cristales líquidos (80- 100 nm) y sin ocasionar desgaste del sonotrodo.

En los resultados obtenidos en la tabla 18, se observa que las muestras fabricadas bajo las condiciones mencionadas anteriormente, mostraron hasta el día veinte de su evaluación, un tamaño de partícula dentro del intervalo de 80- 100 nm, por otro lado, en cuanto al aspecto físico, a partir del día diez comenzó a presentarse un cambio en la coloración de la muestra, a un tono rosa pálido, lo que indica el comienzo de la

oxidación del fármaco, esto puede ser debido a que, de acuerdo con Herbig & Renard, 2016, el ácido ascórbico se vuelve inestable cuando es sometido a temperaturas altas (>50 °C), debido a que cuando las muestras son sonicadas alcanzan una temperatura de 60 °C, se podría intuir que el ácido ascórbico se está desestabilizando, lo cual podría demostrar porque las muestras duraron estables solo diez días, indicando que posiblemente el BHT trabajó individualmente como antioxidante.

En cuanto al pH, Yin et al., 2022 menciona que el uso del ácido ascórbico en muestras, puede reducir el pH de la misma, dado que el ácido ascórbico tiene un valor de pH menor o igual a 3, por lo que, en los resultados mencionados en la tabla 20, se observa como el valor de pH de las muestras se encuentra en un valor de 3- 4. Sin embargo, Skiba et al., 2000 establece que el ketoconazol tiende a ser más estable a un valor de pH dentro de un intervalo de 6- 7, por lo que, se ajustó con ayuda de una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0, lo cual puede visualizarse en la tabla 21.

Como una manera de determinar si con el pH ajustado se presenta mayor estabilidad, y debido a la poca estabilidad en los resultados obtenidos en las muestras del diseño experimental, a las que se les agregó una combinación de antioxidantes, se realizó una prueba de estabilidad a tres diferentes temperaturas; ambiente (20- 25 °C), refrigeración (2- 2.3 °C) y estufa (40 °C), utilizando muestras con una combinación de antioxidantes (BHT y ácido ascórbico) al 3 %, y con los antioxidantes por separado en concentraciones de 1 % y 3 %. De acuerdo con Hussain et al., 2022, el ketoconazol tienen una vida media de 30 días, tiempo después al que comienza a sufrir oxidación, por lo que, se tomó este tiempo como base para determinar la duración de la prueba de estabilidad, la cual se realizó durante un mes, buscando estabilizar la muestra de cristales líquidos cargados con ketoconazol al adicionar un antioxidante. De acuerdo con los resultados obtenidos visibles en la tabla 25, la muestra que contiene BHT con una concentración del 1 % y un pH ajustado de 7.00, presentó los mejores resultados en cuanto a la estabilización de los cristales líquidos cargados con ketoconazol, ya que mantuvo al principio activo estable durante la prueba de estabilidad en las tres diferentes temperaturas, manteniendo un valor de pH cercano al inicial de 7.00 y un tamaño de partícula dentro del intervalo establecido (80- 100 nm).

En resumen, el antioxidante BHT a una concentración del 1 % y con un pH de 7.00, resultó ser el más efectivo para estabilizar al ketoconazol contenido en las muestras de cristales líquidos, además de las condiciones optimizadas en el proceso de sonicación, las cuales finalizaron como, una amplitud del 80 %, ciclos al 100 % y un total de dos ciclos de sonicación con una duración de dos minutos, además de la agitación necesaria para integrar las dos fases (acuosa y oleosa) y formar la muestra de cristales líquidos, la cual se determinó en un total de diez horas, todos estos parámetros se establecieron con el objetivo de cumplir con las características esperadas y reportadas de los cristales líquidos, las cuales son, una distribución de tamaño de partícula dentro del intervalo de 80- 100 nm, incluyendo además, un sistema homogéneo, monodisperso y con un aspecto físico de la muestra, en el que se observe un color blanco-azulado ligeramente translúcido al ser vista a contraluz.

## 8. CONCLUSIÓN

El método optimizado para el proceso de fabricación de los cristales líquidos cargados con ketoconazol y antioxidante, establecido gracias al diseño experimental, resultó eficaz en la obtención de muestras con un matiz de color blanco- azulado, que es el color indicativo de que no está oxidado el ketoconazol dentro de la formulación, además, muestran un tamaño de partícula dentro del intervalo aceptado de 80- 100 nm, obtenido gracias a los ciclos de sonicación empleados, así como la ausencia de sedimento en las paredes o el fondo del frasco que almacena la muestra, asegurando una completa integración de los componentes.

En cuanto al antioxidante más eficaz, se detectó en la prueba de estabilidad al butilhidroxitolueno (BHT) con una concentración del 1 % y un pH ajustado a 7.00, el cual mostró estabilidad ante las tres temperaturas a las que fue sometido (ambiente, refrigeración y estufa), conservando su tamaño de partícula  $>80$  nm, manteniéndose dentro del intervalo establecido aceptado y un valor de pH cercano a su valor inicial de 7.00, además no se presenció separación de los componentes de la muestra, ni sedimentos en el contenedor que la almacena.

Para la evaluación de la capacidad antioxidante, la prueba se descartó, por la falta de estabilidad de la muestra y la inconsistencia en los puntos de la curva, ya que al realizar la repetibilidad de los mismos puntos, no se obtuvo el mismo tono amarillo y la absorbencia tuvo un incremento significativo, así mismo, se sugerirá para futuras investigaciones, establecer métodos para determinar la capacidad antioxidante del ácido ascórbico y del BHT.

## 9. REFERENCIAS

- Abral, H., Atmajaya, A., Mahardika, M., Hafizulhaq, F., Kadriadi, N., Handayani, D., Sapuan, S., & Ilyas, R. (2020). Effect of ultrasonication duration of polyvinyl alcohol (PVA) gel on characterizations of PVA film. *Journal Of Materials Research And Technology*, 9(2), 2477-2486. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.12.078>
- AEPED (2023), Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. *Pediamécum*. ISSN 2531-2464. Disponible en: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/ketoconazol>.
- Alberto Checa Rojas. (2017). Metabolismo de fármacos. 2024, Febrero 13, Conogasi.org Sitio web: <https://conogasi.org/articulos/metabolismo-de-farmacos/>
- Bala, R (2021). La perspectiva de cristales líquidos en nano formulaciones para sistemas de administración de fármacos. *Revista de estructura molecular*, 1245, 131117. doi:10.1016/j.molstruc.2021.13111
- Bioequivalencia in vivo o disolución in vitro? <https://www.ilaphar.org/aplicacion-del-sistema-de-clasificacion-biofarmaceutica-al-cuadro-basico-de-medicamentos-de-cuba-bioequivalencia-in-vivo-o-disolucion-in-vitro>.
- Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables. (2023). Ketoconazol. [http://www.facmed.unam.mx/bmd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Ketococonazol.htm#:~:text=RECOMENDACIONES%20SOBRE%20ALMACENAMIENTO%3A,30%C2%B0C%2C%20bien%20tapado](http://www.facmed.unam.mx/bmd/gi_2k8/prods/PRODS/Ketococonazol.htm#:~:text=RECOMENDACIONES%20SOBRE%20ALMACENAMIENTO%3A,30%C2%B0C%2C%20bien%20tapado).
- Chavda, V (2022). Lyotropic liquid crystals for parenteral drug delivery. *Journal Of Controlled Release*, 349, 533-549. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.06.062>
- Csiszar, E., Kalic, P., Kobol, A., & De Paulo Ferreira, E. (2016). The effect of low frequency ultrasound on the production and properties of nanocrystalline cellulose suspensions and films. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 473-480. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.028>
- Denning, D. W. (2024). Global incidence and mortality of severe fungal disease. *The Lancet Infectious Diseases*. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(23\)00692-8](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(23)00692-8)

- Enrique Fernández, (2023). Formulario visual. FarmaciaProfesional. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-formulario-visual13068987#:~:text=El%20ketoconazol%20debe%20protegerse%20de,va%20a pareciendo%20en%20la%20preparaci%C3%B3n>.
- Evans, A., Song, N., Peddie, N., & Evans, A. (2011). Particle size reduction to the nanometer range: a promising approach to improve buccal absorption of poorly water-soluble drugs. *International Journal Of Nanomedicine*, 1245. <https://doi.org/10.2147/ijn.s19151>
- Ezike, T. C., Okpala, U. S., Onoja, U. L., Nwike, C. P., Ezeako, E. C., Okpara, O. J., Okoroafor, C. C., Eze, S. C., Kalu, O. L., Odoh, E. C., Nwadike, U. G., Ogbodo, J. O., Umeh, B. U., Ossai, E. C., & Nwanguma, B. C. (2023). Advances in drug delivery systems, challenges and future directions. *Heliyon*, 9(6), e17488. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17488>.
- Fernández, E (2023). About liquid crystals. <http://www.iq.usp.br/mralcant/AboutLC.html>
- Gabric, A (2022). Oxidation of Drugs during Drug Product Development: Problems and Solutions. *Pharmaceutics*, 14(2), 325. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020325>
- Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2023). Ascorbic acid as antioxidant. In *Vitamins and hormones* (pp. 247-270). <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.10.008>
- Hejri, A., Khosravi, A., Gharanjig, K., & Davarani, M. M. (2019). Effect of edible antioxidants on chemical stability of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers. *LWT*, 113, 108272. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108272>
- Herbig, A., & Renard, C. M. (2016). Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. *Food Chemistry*, 220, 444-451. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.012>
- HORIBA Scientific. (2024, 18 junio). <https://www.horiba.com/int/scientific/>
- Hussain, A., Afzal, O., Altamimi, M. A., Altamimi, A. S. A., Ramzan, M., Hassan, M. Z., Mahdi, W. A., & Webster, T. J. (2022). Improved Subcutaneous Delivery of Ketoconazole Using EpiDerm and HSPiP Software-Based Simulations as

Assessed by Cell Viability, Cellular Uptake, Permeation, and Hemolysis In Vitro Studies. ACS Omega, 7(46), 42593-42606. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06001>

- ILAPHAR, Revista de la OFIL. (2020). Aplicación del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica al Cuadro Básico de Medicamentos de Cuba:
- Kim, B. Moon; Lee, Dong Ryeol; Park, Ji Su; Bae, Il; Lee, Yan. (2016). Formulación de nanopartículas de cristal líquido como sistema de administración oral de fármacos para distribución específica en el hígado. Revista internacional de nanomedicina, (), 853–. doi:10.2147/IJN.S97000
- Li, L., Lu, L., Wu, S., Hu, D., Tang, T., & Tang, Y. (2023). Study on spectral properties of butyl hydroxytoluene: Experiment and theoretical calculation. Inorganic Chemistry Communications, 148, 110283. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2022.110283>
- Losada-Barreiro, S., Sezgin-Bayindir, Z., Paiva-Martins, F., & Bravo-Díaz, C. (2022). Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. Biomedicines, 10(12), 3051. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123051>
- Mexpolimeros. (2023). LCP cristales líquidos. Polímeros Termoplásticos, Elastómeros y Aditivos. <https://www.mexpolimeros.com/lcp.html>
- Mhaske, R. A. (2011). Identification of Major Degradation products of Ketoconazole. Scientia Pharmaceutica, 79(4), 817-836. <https://doi.org/10.3797/scipharm.1107-18>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. International Journal Of Molecular Sciences, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nalone, L., Marques, C., Costa, S., Souto, E. B., & Severino, P. (2020). Liquid crystalline drug delivery systems. En Elsevier eBooks (pp. 141-149). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817870-6.00007-9>
- Nalone, Luciana. (2020). Tendencias en la administración de fármacos || Sistemas de administración de fármacos de cristal líquido. , (),141–149.

doi:10.1016/B978-0-12-817870-6.00007-9.<https://www.wellesu.com/10.1016/B978-0-12-817870-6.00007-9>

- Nugroho, R. W. N., Tardy, B. L., Eldin, S. M., Ilyas, R., Mahardika, M., & Masruchin, N. (2023). Controlling the critical parameters of ultrasonication to affect the dispersion state, isolation, and chiral nematic assembly of cellulose nanocrystals. *Ultrasonics Sonochemistry*, 99, 106581. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106581>
- Pasquali, R. (2006). Características e identificación de los cristales líquidos liotrópicos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(2), 38-53.
- PCC Group.(2023). Cristales líquidos.PCC Group Product Portal. <https://www.products.pcc.eu/es/academy/cristalesliquidos/#:~:text=Una%20forma%20de%20obtener%20cristales,en%20una%20forma%20cristalina%20l%C3%ADquida.>
- *Quimica alkano*. (2024). <http://quimicaalkano.com/product/ketoconazol/>
- Rojano, B. A., Gaviria, C. A., Gil, M. A., Saez, J. A., Schinella, G., & Tournier, H. (2024). actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-40042008000100021](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042008000100021)
- Romero, G.A. (2018). Evaluación de la estabilidad cinética y liberación de ketoconazol a partir de una crema tópica que contiene cristales líquidos liotrópicos. (Tesis de maestría). Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco, Ciudad de México, México.
- Ruiz, M. (2020). Determinación de la actividad antioxidante. En la Universidad Simón Bolívar. <https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7986/Gu%C3%ADa%20de%20Determinaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20antioxidante.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Santiago A. (2014). Determinación del efecto antimicótico de ketoconazol incorporado en cristales líquidos liotrópicos en *C. albicans*. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/2317>
- Shoaib, A (2021). Vicisitudes de los cristales líquidos para mejorar la solubilidad

de fármacos poco solubles. *Revista de Líquidos Moleculares* , 321 , 114924.

- Skiba, M., Skiba-Lahiani, M., Marchais, H., Duclos, R., & Arnaud, P. (2000). Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations. *International Journal Of Pharmaceutics*, 198(1), 1-6. [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(99\)00279-3](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(99)00279-3)
- Tsume, Y., Mudie, D. M., Langguth, P., Amidon, G. E., & Amidon, G. L. (2014). The Biopharmaceutics Classification System: Subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. *Eur J Pharm Sci*, 57, 152-163.
- Universidad Complutense de Madrid. (2020). *Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación*. <https://www.ucm.es/otri/noticias-los-cristales-liquidos-amplian-su-aplicacion-en-biomedicina-con-el-encapsulado-de-farmacos>
- Vega, M (2016). Nota sobre el Ácido Ascórbico - Cirugía Dermatológica, Facial y Oculoplástica. <https://doctormauriciovega.com/nota-sobre-el-acido-ascorbico/>
- Xiang, L., Fu, M., Wang, T., Wang, D., Xv, H., Miao, W., Le, T., Zhang, L., & Hu, J. (2024). Application and development of ultrasound in industrial crystallization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 107062. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.107062>.
- Yin, X., Chen, K., Cheng, H., Chen, X., Feng, S., Song, Y., & Liang, L. (2022). Chemical Stability of Ascorbic Acid Integrated into Commercial Products: A Review on Bioactivity and Delivery Technology. *Antioxidants*, 11(1), 153. <https://doi.org/10.3390/antiox11010153>.