



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



A
201

FALLA DE ORIGEN
DESARROLLO Y OPTIMIZACION DE TRES FORMULACIONES
PARA OVULOS EMPLEANDO DISEÑOS EXPERIMENTALES

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
OCTAVIO CHAVEZ GONZALEZ

ASESOR Y DIRECTOR DE TESIS: M. en C. VICENTE ALONSO PEREZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1995



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

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

"Desarrollo y optimización de tres formulaciones para
divulgar emulsionis diseñadas experimentales"

que presenta el pasante: Cotovic Chávez González
con número de cuenta: 2955300-2 para obtener el TITULO de:
Químico Farmacéutico Bifloro

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

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 12 de Mayo de 199 5

PRESIDENTE M. en C. Vicente Alonso Pérez

VOCAL D.F.S.B. Rosalío Cruz Rodríguez

SECRETARIO A.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera

1er. SUPLENTE M. en C. José A. García Rojas

2do. SUPLENTE D.F.B. Efraín Hernández Saltszár

*Para ustedes Papá y Mamá, a quienes llevo
en mi corazón dedico este trabajo.
Gracias por que con su apoyo y ejemplo
me permiten ser alguien en esta vida.*

Los Amo.

*A mis Hermanos y Sobrinos por darme mil razones
para quererlos (y otras mil para ¡ soportarlos !)
en especial a tí "Claus".*

Gracias

*Para tí Mónica,
por que estas a mi lado
por que has estado siempre junto a mí
gracias, por que sin tí nada sería igual*

Te amo

Mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que formaron parte muy importante en esta etapa de mi vida.

A mis compañeros de la facultad :

- La Generación 16ava.*
- Mis amigos de la Generación 17ava.*
- a la Sección de Farmacia.*

A mis profesores, en especial al profesor Vicente Alonso Pérez, por la dirección de mi trabajo, por su gran amistad y apoyo.

Dedico también el presente a mis compañeros y amigos del excelente equipo de Investigación y Desarrollo de Syntex.

A todos ellos mil gracias

Si el agua es de tormenta

El viento empuja

Si el agua es de burbuja

El viento eleva ...

Dios nos ha dado dos alas

Para volar hacia El...

El Amor y La Razón.

OCHG

INDICE

	PAGINA
<i>OBJETIVOS</i>	1
<i>INTRODUCCION</i>	2
<i>CAPITULO I GENERALIDADES</i>	4
<i>CAPITULO II PARTE EXPERIMENTAL</i>	37
<i>CAPITULO III RESULTADOS</i>	72
<i>CAPITULO IV ANALISIS DE RESULTADOS</i>	83
<i>CONCLUSIONES</i>	119
<i>APENDICES</i>	120
<i>BIBLIOGRAFIA</i>	140

OBJETIVOS

Desarrollar tres formulaciones para óvulos utilizando bases de polietilenglicoles que resistan las temperaturas que se alcanzan durante su transporte y liberen el principio activo por disolución de la base.

Establecer modelos empíricos que describan el efecto de los componentes de la formulación y de las variables del proceso de manufactura sobre el producto final mediante diseños experimentales simplex y metodología de superficies de respuesta.

INTRODUCCION

Es posible considerar a la experimentación parte del proceso científico y un medio para comprender la manera en que funcionan los sistemas o procesos.

Este proceso inductivo-deductivo comunmente emplea la estrategia de ensayo-error, experimentando generalmente sin establecer un programa con bases científicas de tal manera que puede resultar un proceso ineficiente, tedioso y subjetivo.

Para que un experimento se realice en la forma más eficiente, es necesario emplear métodos científicos en su planeación.

El diseño estadístico de experimentos es el medio para obtener conclusiones válidas y objetivas sobre un experimento.

Se requiere de un enfoque estadístico y objetivo para obtener conclusiones significativas a partir de los datos. Datos sujetos a errores experimentales.

Una herramienta clave que optimiza este proceso científico es el *diseño experimental*.

Los métodos de diseño experimental tienen amplia aplicación en muchas disciplinas. Son importantes en el desarrollo de formulaciones y procesos.

La Industria farmacéutica no es la excepción dado que los productos farmacéuticos deben cumplir con normas estrictas de calidad que garanticen el mejoramiento y/o reestablecimiento de la salud del paciente.

Actualmente es necesario recalcar el empleo práctico de dichas técnicas en el ámbito industrial farmacéutico fundamentalmente en áreas como investigación y desarrollo.

En este trabajo se utilizan los diseños experimentales para obtener la formulación y método de fabricación óptimos para óvulos que cumplan con los requerimientos de calidad, indicados para el tratamiento local de las infecciones vaginales.

Las infecciones vaginales son uno de los problemas más frecuentes en ginecología. En el tratamiento de la cervicovaginitis de etiología infecciosa, parasitaria, micótica o mixta se prefiere la administración local de agentes terapéuticos como la nitrofurazona, nistatina o el metronidazol por medio de óvulos.

Los principios activos pueden ser indicados para un efecto local o sistémico, pero generalmente los óvulos empleados para combatir a un patógeno invasor son formulados para ejercer acción local.

El objetivo principal del presente trabajo de tesis es desarrollar la formulación de óvulos utilizando bases de polietilenglicoles, ya que se ha visto que estos polímeros presentan ventajas sobre otros tipos de bases sobre todo cuando se emplean en países con climas tropicales. En estos casos se requiere que la base presente un punto de fusión tal que resista las temperaturas que pueden alcanzarse debidas a un almacenamiento inadecuado. De esta manera se evita la deformación del producto dentro del contenedor, la separación de fases (sedimentación de polvos insolubles) y una aceleración en la degradación química de los activos.

Para lograr tal propósito se recurre a las técnicas del *diseño experimental*, técnicas estadísticas que permiten establecer modelos empíricos para describir el efecto de los componentes de la formulación y de las variables del proceso sobre el producto final.

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.- OVULOS

1.1.- DEFINICION

En la mayor parte de Europa y de los países latinoamericanos los óvulos se definen como preparaciones sólidas o semisólidas que se obtienen por fusión o compresión en moldes apropiados para obtener una forma farmacéutica capaz de ser administrada en la vagina donde debe fundirse, disolverse o disgregarse a la temperatura corporal. (1).

Los óvulos y supositorios representan cerca del 1% de los medicamentos dispensados en los Estados Unidos, siendo más populares en Europa y Latinoamérica.

El término "supositorio vaginal", empleado ampliamente en los E.U, corresponde en Europa y Latinoamérica al de óvulos o pesarios (2).

Constituye una vieja forma farmacéutica que ya era empleada por Hipócrates y se continuó usando en la Edad Media bajo la designación de pesarios, sustancias medicamentosas aglomeradas en pequeños cilindros o colocadas en bolsitas permeables, cuyo hilo de colgadura se continuaba fuera de la vagina para poderlas retirar luego del tratamiento. En el último siglo se emplearon estas formas con base de ceras, grasas y también con base de agar-agar o gelatina a las que se daba forma oval, de tamaño y peso variables pero no mayor a 5 g (3).

1.2.- ASPECTOS FARMACEUTICOS GENERALES

Los óvulos y supositorios tienen ventajas sobre las formas farmacéuticas orales, sobre todo cuando el fármaco presenta mal sabor, o provoca problemas gástricos como náuseas, vómito o daño a la mucosa.

Algunos fármacos no pueden ser administrados oralmente debido a que pueden ser afectados por los jugos gástricos, o su actividad terapéutica puede ser modificada por el hígado al absorberse. Los vasos sanguíneos que irrigan la vagina no se conectan con las venas portales hepáticas y por lo tanto los fármacos que sean absorbidos por esta vía se integran directamente a la circulación general.

Los óvulos presentan generalmente forma globular, oviforme, o cónica (torpedo) y su peso puede variar entre 1 y 5 g.

Cualquiera que sea la composición de los óvulos, deben satisfacer en lo posible dos importantes condiciones:

- 1.- No modificar el pH normal del líquido vaginal y, en caso contrario reestablecerlo.
- 2.- Su acción tópica debe ejercerse hasta los lugares de más difícil acceso, sin lesionar los tejidos ni las mucosas.

La forma y tamaño de un óvulo debe ser tal que pueda ser fácilmente insertado sin causar una distensión grave y deben permanecer retenidos por un periodo apropiado.

Una vez insertado, la base del óvulo funde, se ablanda, o se disuelve, distribuyendo el principio activo a los tejidos de la región (1, 3, 4).

1.3.- USOS TERAPEUTICOS

Los fármacos administrados en forma de óvulo pueden ejercer acción local o sistémica. Tal acción depende de la naturaleza del fármaco, su concentración y la velocidad de absorción. Emolientes, agentes antibacterianos, hormonas, esteroides, y anestésicos locales son administrados en forma de óvulo para el tratamiento local de condiciones patológicas en la vagina.

También se ha reportado el uso de pesarios conteniendo prostaglandinas para interrupción del embarazo (2).

1.3.1.- Acción local

Estos medicamentos pueden estar diseñados para ser retenidos dentro de la cavidad vaginal principalmente como anticonceptivos, antisépticos en la higiene femenina, hormonas para restaurar el epitelio y como agentes específicos para combatir a un patógeno invasor.

Los más comunes contienen fármacos anticonceptivos como el nonoxinol-9 y tricomonacidas para combatir la vaginitis causada por *Trichomonas vaginalis*, *Candida (Monilia) albicans*, y otros microorganismos.

1.3.2.- Acción sistémica

Para efectos sistémicos las membranas mucosas del recto y la vagina permiten la absorción de diferentes fármacos solubles. Aunque el recto es utilizado frecuentemente como el sitio para la absorción sistémica de fármacos, la vagina no es usada normalmente para este propósito (1).

2.- EXCIPIENTES

De la misma forma que las bases para ungüentos, las bases para óvulos y supositorios juegan un papel importante en la liberación del principio activo y por lo tanto influyen en la disponibilidad del fármaco ya sea al absorberse para efectos sistémicos o para su disponibilidad local. Por supuesto, uno de los primeros requisitos para la base del óvulo es que permanezca sólida a la temperatura ambiente, pero se funda, ablande, o disuelva a la temperatura corporal.

El excipiente debe adaptarse al fin terapéutico por un lado, y la producción industrial por el otro. De la buena elección del excipiente depende la eficacia del producto.

Los fármacos propuestos para acción local son generalmente **no absorbibles** (anestésicos, antiinflamatorios y antisépticos locales). Las bases usadas para administrar dichos fármacos presentan una fusión y liberación del fármaco lentas en contraste con las bases para fármacos con acción sistémica. Los fármacos para efectos locales son generalmente liberados dentro de un periodo de media hora hasta 4 horas (1, 2).

Cualquiera que sea su naturaleza química, es deseable que el excipiente reúna las siguientes condiciones:

1. Fundir, dispersarse o solubilizarse en presencia de agua a la temperatura vaginal.
2. Ser compatible con los fármacos que integran la fórmula.
3. Inocuo, tolerable, y no ocasionar irritación a una mucosa sensible o inflamada.
4. Liberar satisfactoriamente los agentes terapéuticos incorporados a él.
5. Contraerse lo suficiente al solidificar y no adherirse a los moldes.
6. Debe ser estable en el almacenamiento normal y resistente al crecimiento microbiano (3, 5).

2.1.- CLASIFICACION DE LAS BASES PARA OVULOS

Una gran variedad de sustancias se han usado como bases para óvulos a través de la historia de la medicina. Su uso y aplicación fue difundido más por disponibilidad que por conocimiento científico. En las últimas décadas la elección de la base requiere de una investigación más específica y exacta (2).

Es conveniente clasificar a las bases para óvulos de acuerdo a sus características fisicoquímicas en tres principales grupos: Bases lipofílicas, Bases hidrofílicas y un grupo misceláneo o de bases diversas (1).

2.1.1.- Bases Lipofílicas

La acción de estas bases depende de su fusión a la temperatura del cuerpo para que liberen al principio activo.

Son quizá las bases más frecuentemente utilizadas desde su introducción en 1852. Desde entonces se fabrican comúnmente supositorios y óvulos con bases de ésteres grasos, las bases novatas y aceites hidrogenados.

Estas bases llenan muchos de los requerimientos que deben cumplir como vehículos para óvulos; pero como contraparte, generalmente pueden enranciarse, modifican su punto de fusión y se funden en climas cálidos provocando la separación del principio activo por sedimentación en el contenedor (6).

Manteca de cacao

La manteca de cacao USP es una grasa obtenida de la semilla tostada del *Theobroma cacao*. A temperatura ambiente presenta un aspecto ceroso de color amarillento y con olor a chocolate.

Químicamente es un triglicérido de oleopalmitostearina y oleodistearina.

Funde entre 34 y 36°C pero por su polimorfismo presenta tres estados metaestables: γ (Pf 18°C), α (Pf 22°C) y β_1 (Pf 24°C) y una forma estable β_2 (Pf 35°C). La proporción de las diferentes formas polimórficas depende de las condiciones de almacenamiento y a su manejo térmico. Además la manteca de cacao se contrae muy poco al solidificar, y por ello se adhiere a los moldes.

Por lo anterior se ve que la manteca de cacao está lejos de ser un buen excipiente en la elaboración de óvulos y supositorios (3).

Bases de glicéridos semisintéticos

Estos se preparan saponificando aceites, incluso de coco y de palma, y por acidificación del medio se obtienen los ácidos grasos. Estos ácidos se separan por destilación fraccionada al vacío, constituyendo cabeza los ácidos de C₆ a C₁₀ y cola los ácidos no saturados, generalmente de C₁₈ en adelante. Se aprovecha entonces, para su esterificación con glicerol, el destilado intermedio que contiene los ácidos de 12, 14 y 16 átomos de carbono no saturados. Este conjunto se hidrogena catalíticamente y se reesterifica de nuevo obteniéndose tri, di y monoglicéridos semisintéticos (7).

La relación porcentual de los diferentes ácidos presentes, así como de los diferentes glicéridos, permite obtener una gran variedad de productos que se diferencian por su punto de fusión, plasticidad y poder emulsionante. La facilidad con que solidifican

permite obtener un alto rendimiento en la fabricación. Debido a que el punto de fusión de la masa puede ser regulado por la combinación de productos obtenibles cada uno con su punto de fusión característico, permite preparar la mezcla adecuada para cada caso (8). Estas bases ingresaron en los niveles oficiales en 1959, al ser incluidas en las Farmacopeas como *Adeps Solidus*.

La viscosidad de algunas masas puede variarse con el fin de mantener en suspensión diversos agentes farmacéuticos. Esto puede lograrse por la adición de monoestearato de aluminio o dióxido de silicio coloidal (3, 6).

2.1.2.- Bases hidrofílicas

Glicogelatina

Son bases de preferencia utilizadas para la farmacia oficial, aunque a veces también las adopta la industria para la preparación de algunas especialidades. La preferencia radica fundamentalmente en que no se requiere instrumental costoso para su elaboración. Se prepara con las siguientes proporciones:

Agua	10% P/P
Gelatina	20% P/P
Glicerina	70% P/P

Resulta una masa relativamente rígida que puede destinarse a aplicación rectal o vaginal. Los óvulos de glicogelatina para mujeres adultas suelen pesar unos 16 g y para las niñas 8 g.

Si bien es cierto que tienen algunas ventajas derivadas de su solubilidad y fácil colocación, ofrecen algunas desventajas debido a que la gelatina es incompatible con algunos agentes terapéuticos de aplicación vaginal y la masa ovular puede favorecer el desarrollo de hongos y bacterias. Para su conservación es preciso esterilizar la masa ovular a fin de evitar el desarrollo de *Micrococcus roseus* que genera un color rosado en la misma. El bacilo tetánico, que no es raro de hallar, se encuentra en la gelatina, sobre todo en las paredes engrosadas de las láminas proteicas.

Como se ha visto, estos óvulos tienen un peso y tamaño grandes y contienen mucho líquido que fluye por lo que torna incómodo su uso (1, 2, 3).

Poli(etilenglicoles)

Los poli(etilenglicoles) se han estudiado ampliamente como excipientes potenciales para óvulos.

Son polímeros del etilenglicol, que se presentan en distinto estado físico según su estructura y peso molecular.

Se les designa también como polioxietilenglicoles, en ambos casos, seguidos de una cifra que significa su peso molecular promedio, salvo en el caso del PEG 1500 que es una mezcla de partes iguales de poli(etilenglicoles) 300 y 1540.

Tienen como fórmula general la siguiente: $\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$. Donde "n" representa el número de grupos oxietileno. Los polímeros más bajos están constituidos de cadenas en zig-zag y a medida que aumenta el peso molecular aumenta también hasta predominar, la forma sinuosa. (Fig. 1)

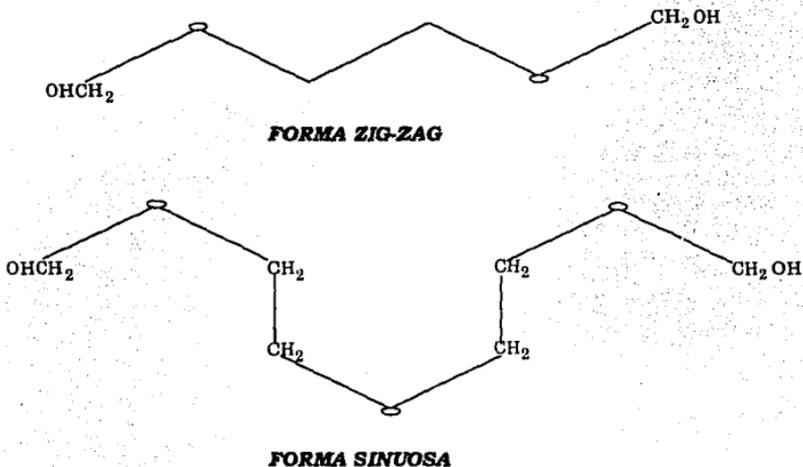


FIGURA No. 1. ESTRUCTURA DE LOS POLI(ETILENGLICOLES)

La distinta conformación de los polímeros más bajos y altos explicaría las diferentes conductas frente a los solventes y reactivos. La estructura sinuosa es más compacta, menos higroscópica y menos soluble en agua (2, 3).

Los miembros de este grupo con pesos moleculares de 200, 400 y 600 son líquidos incoloros mientras que los de pesos moleculares de 900, 1000, 1500, son sólidos céreos blancos, y los de 3350, 4000, 6000 y en adelante se presentan como sólidos cristalinos o polvos de color blanco.

A medida que su peso molecular aumenta, su hidrosolubilidad, presión de vapor, higroscopicidad y solubilidad en disolventes orgánicos disminuye y al mismo tiempo su punto de congelamiento o fusión, densidad y viscosidad aumentan. (TABLA I).

TABLA I. PROPIEDADES DE LOS POLIETILENGLICOLAS

TIPO DE PEG	No. Grupos oxietileno "n"	P.M. PROMEDIO	RANGO DE FUSION (°C)	VISCOSIDAD (mm ² /s) 99°C	DENSIDAD g/mL 20°C
PEG 200	3	190-210	-50°	4.4	1.125
PEG400	8-10	380-420	4° - 8°	7.4	1.128
PEG600	11-13	570-613	20° - 25°	11.0	1.127
PEG1000	20-24	950-1050	37° - 40°	19.5	1.101
PEG 1500	30-36	1400-1600	44° - 48°	15.0	1.151
PEG 2000	40-50	1800-2200	45° - 50°	47	1.170
PEG3350	65-80	3200-3500	54° - 58°	74	1.175
PEG4000	69-84	3000-4800	53° - 60°	180	1.204
PEG 6000	80-95	5400-6600	56° - 63°	580	-----
PEG 8000	158-204	7000-9000	60° - 64°	850	-----

Los polietilenglicoles presentan varias ventajas y desventajas respecto a los demás excipientes para óvulos:

a)Ventajas:

1. Funden a temperatura relativamente elevada, lo que constituye una ventaja para su empleo en países tropicales y la liberación del fármaco es independiente del punto de fusión de las bases.
2. Son sustancias solubles en agua, característica por la cual son muy utilizados, ya que hacen posible la liberación más o menos rápida de los principios activos que se les incorporan (9).
3. Son miscibles con los fluidos fisiológicos.
4. No se hidrolizan o deterioran.
5. El amplio rango de puntos de fusión, solubilidades y consistencias hacen posible la formulación de óvulos con varios grados de termoestabilidad, velocidades de disolución y resistencia a la fractura (10).
6. Son fisiológicamente inertes y no constituyen un medio propicio para el desarrollo microbiano (5, 11).

b) Desventajas:

1.- Incompatibilidades: La principal desventaja de los polietilenglicoles es su reactividad química por lo cual pueden presentar incompatibilidades con los ingredientes de la formulación.

Esto se debe en general a sus funciones éster y también a las impurezas que contienen como el yodo y el bromo. Con los fenoles, algunos ácidos orgánicos y barbitúricos se han presentado interacciones como precipitados coloridos.

También se registran incompatibilidades con sales de plata, ácido tánico, aminopirina, quinina, bálsamo del Perú, benzocaína, sulfamidas y yodohidroxiquinoleína.

El ácido acetilsalicílico ablanda el óvulo con bases de polietilenglicoles. Los ésteres del ácido p-hidroxibenzoico se fijan en el polímero por puentes de hidrógeno, y se precisa incrementar su concentración para que actúen con eficacia.

La bacitracina y la penicilina son inactivadas por los polietilenglicoles.

Los envases plásticos pueden ofrecer problemas que se deben en especial a los plastificantes (2, 3, 5).

2.- Los polietilenglicoles también pueden provocar irritación local debido a su hipertonicidad ya que absorben agua de las mucosas, pero este problema puede resolverse si se agrega agua como un componente de la formulación (2, 11).

3.- Dado que ciertas bases de polietilenglicoles funden a temperatura relativamente elevada se puede afectar la estabilidad de ciertos fármacos al ser incorporados en la mezcla (6).

2.1.3.- Bases diversas

Tensoactivos

Se han estudiado los tensoactivos, ya sea, como integrantes en un 100% de la base para óvulos o incorporándolos en un alto porcentaje a otras bases grasas o hidrofílicas.

Con estos agentes, la liberación de los fármacos puede ser acelerada o retardada. La aceleración puede explicarse por la formación de una emulsión que aumenta el área interfásica, lo que permite una distribución más rápida entre las fases.

El retardo en la liberación se debería a un aumento de la solubilidad del fármaco en el excipiente con la consiguiente modificación del coeficiente de partición.

Cabe señalar que la molécula de muchos de los tensoactivos no iónicos hidrofílicos se encuentra integrada con polietilenglicoles y, por tanto, ofrece las mismas posibilidades

que éstos de formar uniones con distintos fármacos, que suelen ser de puente de hidrógeno.

Los surfactantes más utilizados para formulaciones de óvulos y supositorios son los ésteres de ácidos grasos del polioxietilensorbitano (Tween); los estearatos del polioxietileno (Myrj) y los ésteres de ácidos grasos del sorbitano (Span).

Estos agentes tensoactivos pueden ser usados sólo o en combinación para formular en un amplio rango de puntos de fusión y consistencias. La principal desventaja de estos compuestos radica en el riesgo muy común de alterar la absorción de los fármacos incorporados (2).

Bases hidro-dispersables

Estas bases contienen desintegrantes, gomas, mezclas efervescentes y gluten entre otros materiales (3).

3.- PROCESO DE MANUFACTURA

Tres métodos son usados para la fabricación de óvulos y supositorios: Moldeo a mano, Moldeo por compresión y Moldeo por fusión.

3.1.- MOLDEO A MANO

La forma más simple y vieja de preparar un óvulo es a mano.

Para facilitar la operación, el excipiente debe tener un punto de fusión próximo o inferior a 37°C. Para ello se raspa el excipiente enfriado y se mezcla con los principios activos en un mortero hasta lograr una masa plástica. Enseguida se coloca esta masa entre las palmas de la mano o con una espátula y se le da forma cilíndrica. Este cilindro se corta en el tamaño deseado y se agudiza convenientemente uno de los extremos para facilitar su administración.

3.2.- MOLDEO POR COMPRESION

Puede prepararse la masa como en el procedimiento anterior rallando el excipiente y moliéndolo en un mortero con los activos, se coloca entonces la masa rallada en el cilindro de una prensa especialmente diseñada y se comprime accionando a mano un volante contra una pieza que actúa como molde ubicada en el extremo inferior del cilindro. Esta máquina es de rendimiento bastante bajo y requiere limpieza y lubricación constantes.

Este procedimiento tiene el inconveniente de atrapar aire en los óvulos, provocando que su peso sea variable y además presenten una consistencia frágil (2, 3, 7).

3.3.- MOLDEO POR FUSION

La preparación de óvulos por fusión es siempre más práctica. La industria en general sólo emplea este procedimiento debido a que presenta mejores rendimientos y facilita su automatización.

El método empleado para la manufactura de óvulos con polietilenglicoles es por fusión del excipiente.

Los constituyentes de la formulación pueden dispersarse o disolverse en la base o mezcla de bases fundidas. Es necesario considerar la termoestabilidad del principio activo.

Los polvos insolubles en la masa deben poseer un tamaño de partícula tal que facilite su incorporación con el menor riesgo de sedimentación.

Se estima conveniente que el tamaño de las partículas sea inferior a los 100 μm . Este tamaño de partícula puede lograrse ya sea por trituración del polvo antes de agregarse a la base fundida o al pasar la masa fundida después de su incorporación por un molino coloidal. Cuando la masa ha sido preparada y su temperatura se encuentra próxima a la de solidificación, y con agitación constante se vierte en los moldes.

A medida que la masa se enfría se van formando pequeños cristales que constituyen núcleos de cristalización. La viscosidad aumenta y en cierto momento, la masa, aún líquida contiene un máximo de cristales.

El enfriamiento a temperaturas entre 5°C y 15°C en general es suficiente para solidificar convenientemente el óvulo, sin embargo los sistemas de enfriamiento varían con la producción (1, 2, 3).

3.4.- FABRICACION INDUSTRIAL DE OVULOS

3.4.1.- Preparación de la masa

La fabricación de la masa supone como primeros pasos, la fusión de la base, la incorporación de los principios activos y demás excipientes (agentes conservadores, antioxidantes). La fusión suele llevarse a cabo en marmitas o tanques de acero inoxidable de doble fondo provistos de termostatos y agitador. El tamaño debe ser suficiente para contener la base fundida y en el mejor de los casos también deberán tener capacidad para la adición de los demás componentes.

Los principios activos solubles se disuelven directamente en el excipiente y si requieren temperaturas relativamente altas para su disolución, se disuelven entonces en una fracción del mismo, que luego se adiciona al resto incorporándose por agitación.

Hecha la mezcla se pasa por molino coloidal y en algunos casos incluso por tamiz de acero inoxidable recibiendo en otros recipientes. Hasta aquí la masa puede tener dos destinos:

3.3.- MOLDEO POR FUSION

La preparación de óvulos por fusión es siempre más práctica. La industria en general sólo emplea este procedimiento debido a que presenta mejores rendimientos y facilita su automatización.

El método empleado para la manufactura de óvulos con polietilenglicoles es por fusión del excipiente.

Los constituyentes de la formulación pueden dispersarse o disolverse en la base o mezcla de bases fundidas. Es necesario considerar la termoestabilidad del principio activo.

Los polvos insolubles en la masa deben poseer un tamaño de partícula tal que facilite su incorporación con el menor riesgo de sedimentación.

Se estima conveniente que el tamaño de las partículas sea inferior a los 100 μm . Este tamaño de partícula puede lograrse ya sea por trituración del polvo antes de agregarse a la base fundida o al pasar la masa fundida después de su incorporación por un molino coloidal. Cuando la masa ha sido preparada y su temperatura se encuentra próxima a la de solidificación, y con agitación constante se vierte en los moldes.

A medida que la masa se enfría se van formando pequeños cristales que constituyen núcleos de cristalización. La viscosidad aumenta y en cierto momento, la masa, aún líquida contiene un máximo de cristales.

El enfriamiento a temperaturas entre 5°C y 15°C en general es suficiente para solidificar convenientemente el óvulo, sin embargo los sistemas de enfriamiento varían con la producción (1, 2, 3).

3.4.- FABRICACION INDUSTRIAL DE OVULOS

3.4.1.- Preparación de la masa

La fabricación de la masa supone como primeros pasos, la fusión de la base, la incorporación de los principios activos y demás excipientes (agentes conservadores, antioxidantes). La fusión suele llevarse a cabo en marmitas o tanques de acero inoxidable de doble fondo provistos de termostatos y agitador. El tamaño debe ser suficiente para contener la base fundida y en el mejor de los casos también deberán tener capacidad para la adición de los demás componentes.

Los principios activos solubles se disuelven directamente en el excipiente y si requieren temperaturas relativamente altas para su disolución, se disuelven entonces en una fracción del mismo, que luego se adiciona al resto incorporándose por agitación.

Hecha la mezcla se pasa por molino coloidal y en algunos casos incluso por tamiz de acero inoxidable recibiendo en otros recipientes. Hasta aquí la masa puede tener dos destinos:

- a) Puede recibirse en cubetas como masa a granel y ser muestreada por control de calidad para análisis, dejándose solidificar. En este caso la masa queda en cuarentena hasta su aprobación y entonces es necesario volver a fundirla para su llenado en moldes lo que en ocasiones representa un riesgo a la calidad del producto.
- b) También se presenta la opción de un proceso continuo, es decir después del evento de molienda, la masa se almacena en tanques asegurándose la agitación y temperatura (la más baja posible) durante toda la operación de llenado de los moldes. En este proceso continuo se evita el sobrecalentamiento y la necesidad de una segunda homogeneización; eventos de riesgo cuando se opta por solidificar la masa a granel (7).

3.4.2.- LLenado de los moldes

Una vez preparada la masa perfectamente homogeneizada y a temperatura adecuada se procede al llenado de los moldes. Estos moldes para óvulos pueden ser fabricados con aleaciones especiales de metal ligero resistentes a la corrosión o con láminas de plástico preformadas. En la práctica farmacéutica y para la fabricación industrial se prefieren las láminas premoldeadas de diferentes tipos de plásticos que se llenan y se cierran directamente. Además existen máquinas automatizadas que en un sólo proceso de trabajo moldean las láminas, llenan, sellan y cortan los moldes de acuerdo a la presentación solicitada.

En estas máquinas las láminas de PVC son alimentadas en forma de banda continua hacia una estación de formado, donde se calientan a temperatura de ablandamiento y por medio de aire inyectado a presión se obtienen los moldes con cavidades de volumen establecido. Estos moldes pasan después a la estación de llenado donde se dosifican con bombas multiinyectoras. Estas bombas están conectadas a tanques que mantienen la masa con agitación y temperatura adecuadas.

Los moldes llenos pasan entonces a las estaciones de enfriamiento y sellado cortándose en paquetes a punto de entrega. Existe la posibilidad de acoplar directamente una máquina de cartonaje para formar el embalaje final (6, 7, 8).

Un envase primario para óvulos, como es el molde o contenedor de PVC que responda a las normas de calidad, debe proteger a su contenido de los efectos del medio ambiente, incluso en el caso de un almacenamiento prolongado. Para ello ha de sellarse en forma completamente hermética. Además el envase no debe influir ni química ni físicamente en el contenido.

Existen pruebas de control de proceso específicas para determinar la hermeticidad del contenedor. Una prueba comunmente usada consiste en colocar el contenedor en una

cámara de vacío que contiene una solución de colorante (3). Al mantenerse por un cierto tiempo en estas condiciones los contenedores mal sellados presentarán colorante en su interior debido al desplazamiento del aire que contenían por la solución al aplicarse el vacío. Por todo ello, la película plástica, constituida antaño por simple PVC atóxico, se ha convertido en una película complicada, constituida por dos, tres e incluso más estratos, a cada uno de los cuales se les asigna una misión específica de protección.

En lo que concierne a la maquinaria de llenado directo, las preferencias deben inclinarse hacia un aparato con buena capacidad, que disponga de una perfecta y regulable velocidad de agitación, con estabilidad de temperatura en todas sus partes, incluso en el punto de salida de la masa fundida (12).

3.5.- INCONVENIENTES PRESENTADOS EN LA FABRICACION

En la fabricación pueden presentarse los siguientes problemas:

a) Separación de polvos insolubles (Deshomogeneización):

Pueden deberse a una solidificación muy lenta o cuando los agentes insolubles se encuentran mal dispersados. Esto puede corregirse en el primer caso disminuyendo la temperatura de la masa durante el llenado ligeramente arriba del punto de fusión y/o disminuyendo también la temperatura de refrigeración. Cuando el problema se debe a una mala dispersión, se obtienen mejores resultados si los polvos son micronizados previamente o pasados varias veces por molino coloidal. Además sobre todo debe mejorarse la agitación mecánica.

b) Viscosidad de la masa:

Algunos principios activos sobrecalentados es decir, calentados a mayor temperatura o por más tiempo, se gelifican. Para evitarlo es aconsejable controlar correctamente la temperatura y emplear polvos anhidros.

c) Aparición de fisuras o hendiduras:

Pueden presentarse en la superficie o en el interior. Se deben a fenómenos de contracción bajo condiciones inadecuadas provocándose choques térmicos entre la masa y los moldes. Cuando esto sucede la superficie del óvulo no se contrae igual que en el centro.

d) Anomalías de superficie:

Si los óvulos presentan una superficie escamosa o rugosa, el defecto radica en una refrigeración inadecuada. Deberán en este caso enfriarse a temperaturas inferiores y por más tiempo.

Si la superficie presenta huecos, debe atribuirse a un congelamiento rápido con inclusión de aire. En este caso se aconseja aumentar la temperatura de la masa o la de los moldes.

e) Adherencia a los moldes:

En el momento que los óvulos sean retirados de su contenedor puede ocurrir que fragmentos de masa se adhieran en forma de película en la superficie interior del molde. Se requiere que el excipiente presente mayor contracción al solidificarse.

f) Peso irregular:

En general este incidente puede deberse a una mala distribución de los polvos insolubles o a la inclusión de microburbujas de aire por el agitador. El problema suele ocurrir cuando la masa es muy espesa y/o la agitación es muy violenta (2, 3, 6).

4.- FACTORES ANATOMICOS Y FISIOLÓGICOS DE LA ADMINISTRACION VAGINAL

La vagina es un canal que va del cuello del útero a la vulva. En la extremidad inferior, el orificio vaginal se encuentra más cerrado en la mujer virgen por un repliegue mucoso llamado himen. Las paredes de la vagina generalmente se hallan en contacto y tienen una longitud media de 8 cm. Su pared anterior tiene 7.5 cm y la posterior 9 cm.

Desprovista de glándulas, la pequeña cantidad de líquido que lubrica la mucosa no es una secreción sino el producto de la exudación que produce la descamación de su propio epitelio. La irrigación sanguínea se cumple en gran parte por la arteria vaginal pero además recibe ramas de arterias vecinas, uterina, vesical inferior, pudenda interna, hemorroidal media. Las venas se disponen en plexos hacia los bordes laterales de la vagina, transportando sangre que no pasa por el hígado. Abundantes vasos linfáticos se unen a los ganglios hipogástricos e inguinales.

El líquido que lubrica la vagina es ácido debido al bacilo de Döderlein, bacteria Gram (+) presente como flora normal que sirve de protección. El bacilo produce ácido láctico a partir de los glúcidos presentes. Así el pH en la mujer adulta oscila entre 4-4.5 y sufre variaciones conforme la edad y en condiciones patológicas.

Debido a que la vagina está muy irrigada, los medicamentos que se dan por esta vía pueden ser absorbidos por sus paredes e ingresar en la circulación general a través de sus sistemas venoso y linfático, sin pasar por el hígado.

Esto significa que se debe ser cauto en la elección del agente terapéutico si no se desea que el mismo tenga acción general (1, 4).

5.- BIODISPONIBILIDAD DEL FARMACO EN LA ADMINISTRACION VAGINAL

La secuencia de eventos que conducen a la liberación del fármaco por vía vaginal pueden representarse en el siguiente diagrama:

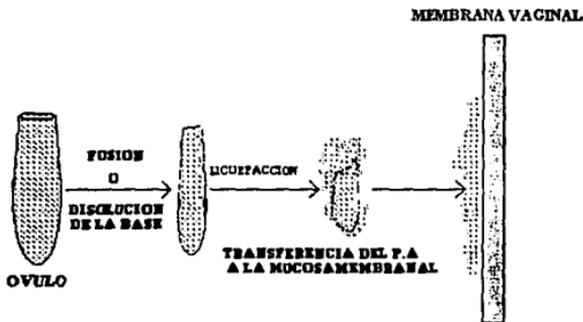


FIGURA No. 2 LIBERACION Y DISPOSICION DEL P.A.
EN LA ADMINISTRACION VAGINAL

El proceso de liberación comprende dos etapas principales:

1.- Destrucción de la forma farmacéutica.

Luego de la aplicación del óvulo lo que ocurre es la licuefacción del mismo con formación de una emulsión entre el fluido vaginal y parte del excipiente fundido, si este es de naturaleza lipídica.

Si en cambio el excipiente es soluble en los fluidos, se forma en parte una solución y en parte una dispersión, según las características del excipiente, el principio activo y el fluido vaginal. De cualquier manera, sea cual sea el excipiente utilizado, se convierte, después de la fusión o disolución, en una masa más o menos viscosa que forma una película en la superficie de la mucosa y a partir de esta película el principio activo difunde hacia el medio vaginal.

2.-Transferencia del principio activo hacia el medio y su difusión hacia las membranas (4).

Los fármacos solubles en el excipiente no se liberan con facilidad de él, lo hacen lentamente y van disolviéndose en el medio acuoso circundante. Si el fármaco es poco soluble en el excipiente, se libera con más facilidad y puede llegar al límite de saturación del fluido vaginal.

De modo que, en general, se logra una liberación rápida por incorporación del fármaco a un excipiente en el que sea insoluble, es decir, en el que se encuentre en suspensión.

Para que el fármaco esté disponible para ejercer su efecto debe ser liberado del óvulo y distribuido por los fluidos que lo rodean al sitio de acción. El fármaco se disuelve o dispersa en el fluido vaginal y para absorberse o actuar localmente, es preciso que la emulsión o suspensión formada bañe adecuadamente la mucosa.

La disponibilidad biológica de un fármaco administrado por vía vaginal está condicionada fundamentalmente al coeficiente de partición base/fluidos/, fluidos/mucosa, al tamaño de partícula, a su grado de ionización y a las condiciones de humedad y pH del medio circundante.

La absorción de un fármaco administrado por cualquier vía está en función de su velocidad de disolución en los medios biológicos que bañan las membranas y de sus propios caracteres fisicoquímicos (tamaño, forma de las moléculas, ionización) (3).

Así mismo es necesario conocer si el principio activo debe ejercer una acción local sobre los tejidos de la vagina o bien debe ser absorbido para ejercer un efecto sistémico. En este último caso será imperativo determinar:

- 1.- Si es absorbido.
- 2.- Su biodisponibilidad absoluta en relación a la vía intravenosa o si esto es imposible, en relación a otra vía, por ejemplo la oral.

Es posible que un principio activo que se absorbe bien después de una administración oral, no se absorba por vía vaginal debido a diversas razones:

- Si es muy irritante para la mucosa y es rápidamente rechazado.
- Si debe ser absorbido por un mecanismo específico (transporte activo o facilitado), ya que en la vagina sólo existe transporte pasivo.
- Si es poco soluble, la extensión superficial de la vagina no permite una absorción suficiente para obtener un efecto terapéutico a diferencia del aparato gastrointestinal.
- Si las condiciones de pH que reinan en la vagina son desfavorables a su solubilización y/o disociación (2, 4).

6.- INFECCIONES VAGINALES, CERVICOVAGINITIS Y CANDIDIASIS VAGINAL.

La mayor parte de los casos de vaginitis infecciosas se pueden catalogar en tres distintas categorías: vaginitis bacterianas las cuales alcanzan un porcentaje de 25 a 30%; las candidiasis de 20 a 30% y tricomoniasis de 20 a 30% de los casos.

Varios factores influyen en la cantidad y características de los microorganismos presentes en la flora vaginal; entre otros, el contenido de glucógeno y de glucosa, así como los lactobacilos.

La leucorrea es el principal signo de la enfermedad. Con este nombre se le designa a todo flujo transvaginal que no sea hemático. La infestación vaginal por *Candida albicans* es una de las causas más frecuentes de leucorrea en la consulta ginecológica, estimándose su frecuencia del 55% según el hospital Español (México D.F.).

En general la mucosa vulvovaginal se encuentra enrojecida y exudativa, pero en ocasiones se observan pústulas e incluso úlceras. A veces se observa una intensa vulvovaginitis (edema y eritema de la mucosa vulvar), lo que sugiere hipersensibilidad al hongo o a sus productos metabólicos (13).

6.1.- ETIOLOGIA

Como causas predisponentes de importancia variable se encuentra el embarazo, diabetes mellitus, estados de inmunosupresión, empleo de antimicrobianos de amplio espectro en forma local o sistémica que alteren la flora normal. El uso de anticonceptivos hormonales o corticosteroides y la mayor actividad sexual también pueden contribuir (13, 14).

TABLA II. INFECCIONES VAGINALES

INFECCIONES VAGINALES	AGENTE PRODUCTOR	TRATAMIENTO
TRICOMONIASIS	Trichomonas vaginales	5-nitroimidazoles oral y vaginal, METRONIDAZOL
CANDIDIASIS	Candida albicans	NISTATINA, ketoconazol, miconazol
VULVOVAGINITIS BACTERIANA	Género Pseudomonas y proteus	NITROFURAZONA

En cuanto al tratamiento y las propiedades más importantes de los fármacos indicados pueden revisarse en el apéndice A.

7.- DISEÑOS EXPERIMENTALES

La experimentación es un proceso deliberado por medio del cual se obtienen datos que son empleados para determinar la relación entre variables, el desarrollo de modelos, para confirmar una teoría, para predecir el comportamiento futuro de un sistema o proceso.

Por lo general, este aprendizaje se da a través de una serie de actividades en las cuales hacemos conjeturas sobre un sistema, realizamos experimentos para generar datos a partir del mismo, y entonces usamos la información para establecer nuevos razonamientos que a su vez llevan a realizar experimentos adicionales, y así sucesivamente.

Este proceso de ensayo-error, inducción-deducción, puede resultar ineficiente, tedioso y subjetivo.

Para que un experimento se realice en la forma más eficiente, es necesario emplear métodos científicos en su planeación.

El diseño estadístico de experimentos es el medio para obtener conclusiones válidas y objetivas sobre un experimento. Se requiere de un enfoque estadístico y objetivo para obtener conclusiones significativas a partir de los datos. Datos sujetos a errores experimentales (15, 16).

7.1.- DEFINICION

El diseño experimental es una prueba o serie de pruebas basadas en teorías estadísticas, mediante las cuales se inducen cambios deliberados en las variables de un sistema, de manera que sea posible identificar y estimar su efecto (17).

En esta metodología se establecen una serie de etapas consecutivas en el proceso experimental:

a) Comprensión y planteamiento del problema.

Es necesario desarrollar todas las ideas sobre los objetivos que se quieren alcanzar. Un planteamiento claro del problema contribuye a menudo en forma sustancial a un mejor conocimiento del fenómeno y de la solución del problema.

b) Elección de factores y niveles.

El experimentador debe elegir los factores que variarán en el experimento, los intervalos de dicha variación y los niveles específicos a los cuales se hará el experimento. Tal conocimiento suele ser una combinación de experiencia práctica y comprensión teórica.

c) Selección de variables de respuesta.

Al seleccionar la respuesta o variable dependiente, el experimentador debe estar seguro de que lo que se va a medir realmente provea información útil acerca del proceso de estudio. Con mayor frecuencia el promedio y/o la desviación estándar de la característica medida serán la variable de respuesta.

d) Elección del diseño experimental.

Es importante tener en cuenta los objetivos y hacer un balance entre costo y validez estadística. Mientras más grande sea el tamaño muestral (número de repeticiones) más confiables y fidedignos los resultados. Sin embargo la replicación aumenta los costos en cuanto a tiempo, dinero y esfuerzo por lo que el experimentador debe aceptar un cierto grado de incertidumbre.

El diseño experimental puede elegirse según los siguientes objetivos a cumplir:

- Disminuir la incertidumbre de un fenómeno o proceso
- Optimizar el uso de recursos con mejor rendimiento.
- Disminuir esfuerzo y gasto, con menor tiempo de desarrollo.
- Determinar la relación entre variables
- Control de variables importantes para mayor apego a los requerimientos.
- Predecir el comportamiento de un proceso
- Para construir un modelo que evalúe y prediga óptimos.
- Selección y control de parámetros para que el producto sea consistente o robusto.

e) Realización del experimento.

Cuando se realiza el experimento, es vital vigilar el proceso cuidadosamente para asegurar que se haga conforme a lo planeado. En esta fase los errores en el procedimiento suelen anular la validez experimental.

f) Análisis de datos.

Deben emplearse métodos estadísticos para analizar los datos, de modo que los resultados sean objetivos más que apreciativos. Si el experimento se diseñó correctamente y se ha realizado conforme al diseño, los métodos estadísticos que se requieren no son complicados. Existen varios paquetes computacionales para el análisis de datos y métodos gráficos en la interpretación de tales datos. El análisis de residuos y la verificación del modelo son técnicas útiles de análisis de gran utilidad.

Hay que hacer notar que los métodos estadísticos no pueden probar que un factor o factores tienen un efecto particular.

Sólo proporcionan directrices para la veracidad y validez de los resultados.

Estos métodos aplicados adecuadamente, no permiten probar en forma absoluta algo experimentalmente, sólo hacen posible obtener el probable error de una conclusión, es decir asignan un nivel de confiabilidad a los resultados.

Las técnicas estadísticas, aunadas a un buen conocimiento técnico del sistema o proceso y al sentido común, suelen llevar a conclusiones razonables.

g) Conclusiones y recomendaciones.

Una vez que se han analizado los datos, el experimentador debe extraer conclusiones prácticas de los resultados y recomendar un curso de acción. En esta fase a menudo son útiles los métodos gráficos. También se recomiendan realizarse corridas de seguimiento y pruebas de confirmación para validar las conclusiones del experimento.

El cumplimiento de esta metodología puede dar por resultado productos con mayor calidad, confiabilidad y mejor funcionamiento, con menores costos y menor tiempo de diseño o desarrollo (17, 18).

7.2.- APLICACIONES

Los métodos de diseño experimental tienen amplia aplicación en muchas disciplinas. Las más importantes en nuestro caso pueden ser las siguientes:

a) Caracterización de un sistema o proceso.

En esta circunstancia se desea determinar los factores controlables e incontrolables que influyen en un sistema o proceso. Para lograrlo se puede diseñar un experimento que permita estimar la magnitud y dirección de los efectos del factor; esto es, cuánto cambia la variable de respuesta cuando se modifica cada factor, y si cambiar los factores simultáneamente produce resultados distintos de los que se obtienen con ajustes de factores individuales. A esto se le denomina experimento de escrutinio.

La información que se obtiene de este experimento de escrutinio o caracterización se utiliza entonces para identificar los factores críticos del proceso y determinar la dirección de ajuste de estos factores a fin de reducir la variación, calidad o rendimiento de un proceso.

El experimento puede proporcionar también información acerca de cuales factores deben controlarse con más cuidado durante el proceso ordinario de manufactura a fin de evitar altos niveles de productos defectuosos y comportamiento errático del proceso (16, 19).

b) Optimización de un proceso.

Como vimos en un experimento de caracterización, normalmente nos interesa determinar cuáles variables del proceso influyen en la respuesta. Un siguiente paso lógico es optimizar, es decir determinar en que región los procesos importantes conducen a la mejor respuesta posible. Por ejemplo si la respuesta es rendimiento, buscaríamos una región en que éste fuera máximo, mientras que si la respuesta es variabilidad en una dimensión crítica, buscaríamos una región de variabilidad mínima (20).

7.3.- PRINCIPIOS BASICOS

Los tres principios básicos en el diseño de experimentos son: Replicación, aleatorización y análisis por bloques.

La replicación se refiere a la repetición del experimento básico. Este concepto tiene una propiedad importante. Permite al experimentador obtener una estimación de error experimental. Tal estimación se convierte en la unidad básica para determinar si las diferencias observadas en los datos son estadísticamente significativas.

La aleatorización es la piedra angular que fundamenta el uso de los métodos estadísticos en el diseño de experimentos.

Se entiende por aleatorización el hecho de que tanto las opciones disponibles de material experimental así como el orden en que se realizan las pruebas individuales presenten la misma probabilidad de ser elegidas o llevadas a cabo entre el conjunto total de opciones posibles.

Por lo tanto se requiere que las observaciones (o los errores) sean variables aleatorias independientes. La aleatorización usualmente confirma esta suposición.

El análisis por bloques es una técnica que se usa para incrementar la precisión del experimento. Un bloque es una porción del material experimental que sea más homogénea que el total de material. Al realizarse un análisis de bloques se hacen las comparaciones entre las condiciones de interés del experimento dentro de cada bloque (15, 16, 17).

Para una revisión más detallada de los aspectos estadísticos implicados en el diseño de experimentos se aconseja consultar el apéndice B.

8.- DISEÑOS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA

La metodología de superficie de respuesta (RSM) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influida por varias variables y el objetivo principal es optimizar dicha respuesta.

La superficie de respuestas esta representada por:

$$y = f(X_1, X_2, \dots, X_k) + \varepsilon$$

En la mayoría de los problemas de RSM, la forma de la relación entre la respuesta y la variables independientes se desconoce.

El primer paso consiste en determinar una aproximación apropiada a la relación funcional entre "y" y el conjunto de variables independientes.

Por lo general se emplea un polinomio de orden bajo sobre alguna región de las variables independientes.

Si la respuesta es descrita adecuadamente por una función lineal de las variables independientes, la función de aproximación es el modelo de primer orden:

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon$$

Cuando existe una curvatura en el sistema deberá usarse un polinomio de mayor grado por ejemplo:

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Los métodos de regresión multiple nos permiten analizar los parámetros del polinomio de aproximación.

El análisis de la superficie de respuestas se realiza entonces con el modelo ajustado.

Esto se realiza más eficazmente si se utilizan los diseños experimentales apropiados para recopilar los datos.

Algunas características deseables de un diseño experimental para ajustar superficies de respuesta son:

- a) Proporcionar una distribución razonable de los datos (y la información) en toda la región de interés.
- b) Permitir investigar la idoneidad del modelo, incluyendo la falta de ajuste.
- c) Permitir la realización del experimento en bloques
- d) Permitir la construcción secuencial de diseños de orden superior.
- e) Proporcionar una estimación de error interna.
- f) No requerir un número grande de corridas.
- g) No requerir de demasiados niveles de las variables independientes.
- h) Asegurar simplicidad de los cálculos de los parámetros del modelo.

8.1.- DISEÑOS PARA AJUSTAR MODELOS DE PRIMER ORDEN

Son útiles los diseños ortogonales de primer orden. Esta clase de diseños incluye diseños factoriales 2^k , fraccionales de la serie 2^k y diseños simplex tamiz.

8.2.- DISEÑOS PARA AJUSTAR MODELOS DE SEGUNDO ORDEN

Un diseño experimental para ajustar un modelo de segundo orden debe tener por lo menos tres niveles de factor.

En este caso se emplean los diseños compuestos centrales, simplex lattice cuadrático o cúbico especial, diseños de vértices extremos, diseños de Box-Behnken y diseños equirradiales (17).

9.- DISEÑOS SIMPLEX PARA MEZCLAS

La gran mayoría de los productos fabricados en la industria son el resultado de mezclar 2 o más ingredientes o componentes. Las aleaciones metálicas, las pinturas, cosméticos y medicamentos son ejemplos de mezclas que según la proporción de los componentes en su fórmula presentan propiedades características.

El objetivo primordial del formulador al desarrollar tal producto es encontrar el mejor balance entre recursos disponibles y calidad de diseño. El problema a resolver será encontrar la composición que cumpla con los requisitos establecidos según las necesidades de un cliente (19).

La estrategia comúnmente empleada consiste en preparar y determinar las propiedades de una serie de mezclas de composición establecida hasta encontrar la combinación que brinde los mejores resultados. En la práctica este proceso es subjetivo y deficiente por lo que es necesario establecer experimentos estadísticamente diseñados para la selección sistemática de la composición de la mezcla a realizar (21).

Los diseños de experimentos con mezclas tienen dos cualidades importantes:

- 1.- La respuesta obtenida de una mezcla depende de la proporción de los componentes y no de la cantidad total de la mezcla.
- 2.- La composición de los componentes no puede ser variada en forma independiente uno de otro. La proporción de los componentes X_i ($i = 1, 2, \dots, q$) en la mezcla debe tomar valores entre 0 y 1. Además la suma de éstos debe ser igual a 1 :

$$0 \leq X_i \leq 1; \quad \sum_{i=1}^{q} X_i = 1$$

Los datos son generados mediante un experimento diseñado y un modelo polinomial es empleado para describirlos.

Las gráficas de superficie de respuesta son empleadas para encontrar la región de respuestas óptimas o favorables.

Un diseño que cumple con las cualidades mencionadas anteriormente es el *diseño simplex* (18, 22).

Un simplex es una figura regular con $k + 1$ vértices en k dimensiones. Así para $k = 2$ (dos dimensiones) el diseño simplex es un triángulo equilátero, mientras que para $k = 3$ es un tetraedro regular (17) (ver figura No. 3).

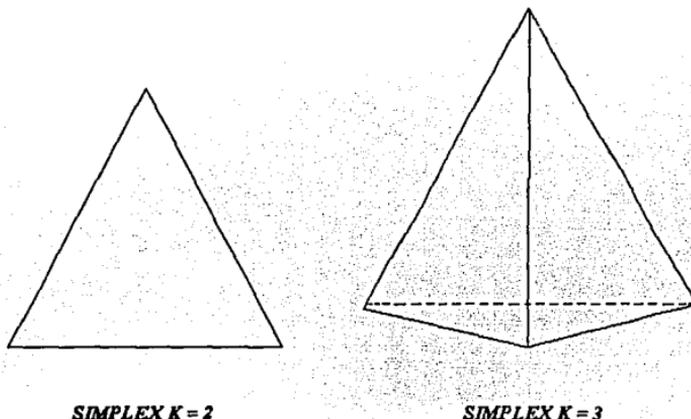


FIGURA No. 3 DISEÑOS SIMPLEX BI Y TRIDIMENSIONALES

Las características más importantes de un diseño simplex son:

-Las mezclas o puntos experimentales cubren toda la región de interés (red o "Lattice").

Este término se refiere a un arreglo ordenado que distribuye uniformemente los puntos experimentales dentro de la región experimental o *simplex* (21).

Las respuestas son medidas sobre estos puntos del arreglo.

-Se puede estimar con precisión los coeficientes del modelo propuesto. Estos coeficientes son funciones simples de las respuestas medidas.

-Es posible estimar el error experimental.

-Se puede estimar "bondad de ajuste" del modelo propuesto.

El arreglo tiene una correspondencia con una ecuación polinomial específica.

Para obtener un modelo polinomial de grado m y con q componentes, la red se designa como $\{q, m\}$ y las coordenadas de dichos puntos se definen mediante la siguiente relación:

$$X_i = 0, 1/m, 2/m, \dots, 1$$

Las proporciones para cada uno de los componentes tomarán $m + 1$ valores, espaciados entre 0 y 1.

Por ejemplo para $q = 3$ y $m = 2$ $\{3, 2\}$ donde el espacio experimental es un triángulo equilátero las mezclas tomarán las composiciones $X_i = 0, 1/2, 2/2$ para $i = 1, 2, 3$.

La red cuadrática simplex consiste en las seis corridas siguientes:

$$(X_1, X_2, X_3) = (1,0,0); (0,1,0); (0,0,1); (1/2,1/2,0); (1/2,0,1/2); (0,1/2,1/2)$$

El diseño se muestra en la figura No. 4. Los tres vértices corresponden a los componentes puros, mientras que los puntos $(1/2,1/2,0)$; $(1/2,0,1/2)$; $(0,1/2,1/2)$ son las mezclas binarias localizadas en los puntos centrales de las tres aristas del triángulo.

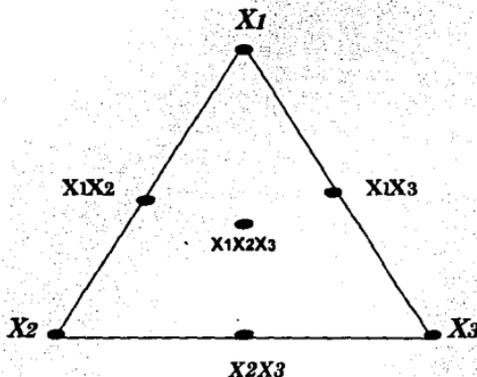


FIGURA No. 4 DISEÑO SIMPLEX LATTICE $\{3,2\}$

El número de puntos en un diseño de red simplex $\{q, m\}$ puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$N = \frac{(q + m - 1)!}{m!(q - 1)!}$$

9.1.- MODELOS POLINOMIALES PARA MEZCLAS

Los modelos para mezcla difieren de los polinomios usuales empleados en la metodología de superficie de respuesta debido a la restricción $\sum X_i = 1$. Al hacer intervenir tal restricción los modelos se ven reducidos a su forma canónica, es decir se elimina el término constante β_0 de la ecuación (21, 22). Los modelos de mezcla son:

LINEAL

Caso general:

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i X_i$$

para tres componentes:

$$y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$$

CUADRÁTICO

Caso general:

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i X_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j$$

para tres componentes:

$$y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

CUBICO ESPECIAL

Caso general:

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i X_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i < j < k} \beta_{ijk} X_i X_j X_k$$

para tres componentes:

$$y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3$$

El primer segmento de cada modelo en el caso general $\beta_i X_i$ representa el término o porción lineal de mezcla para componentes puros. Cuando existe curvatura debida a mezcla no lineal entre componentes los parámetros $\beta_{ij} X_i X_j$ representan mezcla antagonica o sinérgica.

Una manera conveniente de visualizar la representación matemática es a través del concepto de superficie de respuesta. Tres componentes están representados por un sistema triangular coordinado. Cada punto de sistema corresponde a una mezcla (X_1, X_2, X_3) de composición fija. La respuesta de cualquier mezcla se representa como un coordinado perpendicular al plano del simplex (21, 22) (ver figura No. 5).

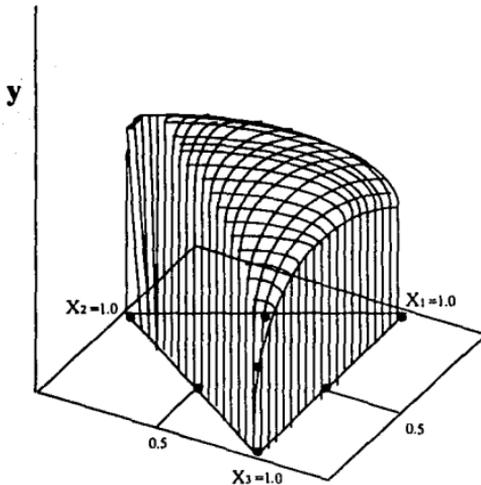


FIGURA No. 5 REPRESENTACION DE LA SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA UN DISEÑO SIMPLEX

9.2.- RESOLUCION DE MODELOS

Hay dos métodos de resolución para cálculo de los coeficientes:

A) Método de resolución directa.

Si el número de experiencias mínimas que requiere el modelo (N) es igual al número de coeficientes (β) a determinar, es decir si la matriz de experiencias es cuadrada o puede invertirse ($N = \beta$) se usa un método directo resolviéndose N ecuaciones independientes donde los coeficientes son funciones simples de las respuestas obtenidas (22) (ver apéndice C).

B) Método de mínimos cuadrados.

Cuando la matriz de experiencias no es cuadrada ($N > B$) se estiman los coeficientes por el método de mínimos cuadrados.

9.3.- DISEÑOS SIMPLEX TAMIZ

El primer paso para una buena estrategia experimental consiste en efectuar experimentos de escrutinio (screening) bajo un diseño tamiz con el fin de encontrar dentro de un número grande de variables aquellas que tienen mayor importancia.

Los diseños tamiz nos permiten identificar y cuantificar los efectos de las variables (normalmente 5 o más) y desarrollar ecuaciones lineales de predicción. Son diseños de

primer orden. El propósito de realizar tal diseño es el reducir el número de componentes candidatos al mínimo con el fin de estudiarlos en mayor profundidad quizá entonces manejando modelos de orden superior (22).

9.3.1.- Arreglos simplex tamiz

Las composiciones de las mezclas en los diseños tamiz dependerá de la forma de la región experimental. Se recomienda usar un modelo ABC con $(2q + 1)$ mezclas que consta de q componentes puros, q mezclas interiores y 1 mezcla de punto centroide. Las respuestas de los componentes puros tienen un gran efecto en la estimación de los coeficientes lineales. Las respuestas interiores y el centroide pueden ser puntos de prueba para el diseño ya que permiten calcular el error experimental. En caso de que se sospeche que la eliminación de un componente tendrá un efecto importante en la respuesta se adicionan q puntos al final del diseño donde estén presentes todos los componentes en igual proporción menos el componente en duda. Este último caso se conoce como diseño simplex tamiz ABCD (18, 21).

9.4.- DISEÑOS SIMPLEX DE VERTICES EXTREMOS

En ciertas ocasiones al realizar experimentos con mezclas no es conveniente o posible el explorar todo el rango de composiciones (0 al 100%). En estas situaciones el simplex utilizado cubre una porción del espacio total de mezclas. Debido a consideraciones físicas o fisicoquímicas de los materiales o por razones económicas se establecen límites sobre uno o más de los q componentes en la mezcla (23).

También puede darse el caso de que el experimentador convenga secuencialmente en estudiar más a fondo un espacio experimental restringido en busca de una zona que optimice las respuestas. Para resolver estos problemas se emplean los diseños experimentales *simplex de vértices extremos* (18).

Se establecen límites bajos (a_i) y altos (b_i) sobre los componentes X_i quedando el espacio experimental de la siguiente manera:

$$0 \leq a_i \leq X_i \leq b_i \leq 1$$

El primer punto para la construcción del diseño consiste en definir los rangos de estudio. Por ejemplo para tres componentes:

$$a_1 \leq X_1 \leq b_1$$

$$a_2 \leq X_2 \leq b_2$$

$$a_3 \leq X_3 \leq b_3$$

Dichos diseños quedan definidos por tres grupos de puntos:

- Vértices (esquinas)
- Centroides (puntos centrales de una cara)
- puntos en aristas.

Para determinar los vértices que darán forma al nuevo espacio experimental dentro del simplex original se utiliza el algoritmo de Anderson y McLean (apéndice D). Establecidos los vértices se obtiene un arreglo representado por un polihedro o hiperpolihedro localizado dentro del simplex original (23).

(ver figura No. 6).

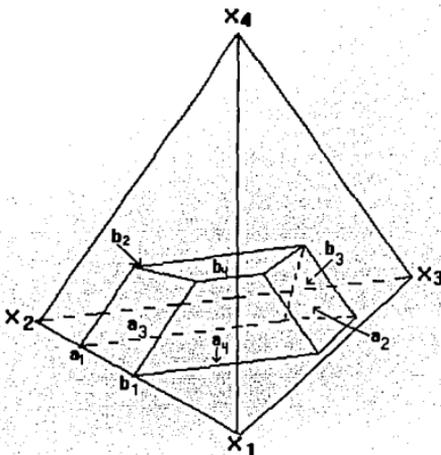


FIGURA No. 6 DISEÑO SIMPLEX DE VERTICES EXTREMOS PARA CUATRO COMPONENTES

9.5.- DISEÑOS NO-CLASICOS PARA MEZCLAS (CRITERIO D-OPTIMAL).

Cuando estudiamos mezclas con límites restringidos para sus componentes y encontramos espacios experimentales como los descritos, el número de puntos experimentales a examinar se incrementa sustancialmente. Los vértices, los centros de gravedad de los planos, los puntos interiores de las aristas y el centro de gravedad total complican la elección de la matriz experimental. El criterio de "D-optimal" es empleado para elegir la mejor matriz experimental con el menor número de experiencias incluso

para modelos de alto orden y con más de tres componentes. Se ha verificado incluso que aplicando este criterio una matriz de ocho experimentos elegida como d-óptima puede ser tan buena como una matriz inicial candidata de 126 experiencias (24).

El método es similar que el ocupado para fraccionar factoriales completos. De la misma manera la reducción de un diseño complejo implica el problema de elegir un diseño "óptimo" con menor número de experiencias, ahorrando tiempo, materiales y costos.

Este criterio está basado en la minimización del error al calcular los coeficientes del modelo mediante la elección de experimentos que maximicen la determinante de la matriz información $X'X$. Esta es una matriz de varianza-covarianza invertida empleada en el método de mínimos cuadrados de la regresión múltiple para el cálculo de los coeficientes. Al maximizar la determinante de dicha matriz se minimiza la varianza y la covarianza de los coeficientes de regresión así como el volumen de su elipse de confianza. (Hablando del caso lineal diríamos intervalo de confianza).

En la práctica este método resulta complicado y bastante laborioso por lo que el experimentador comúnmente se auxilia de programas en computadora que encuentran la matriz óptima de experimentos (19, 24, 25).

10.- DISEÑOS FACTORIALES PARA VARIABLES DEL PROCESO

Muchos experimentos se llevan a cabo para estudiar los efectos producidos por dos o más factores. Los diseños factoriales son los más eficientes para este tipo de experimentos.

Por diseño factorial se entiende aquel en que se investigan todas las posibles combinaciones de los factores a diversos niveles en cada ensayo completo o réplica del experimento (15, 17).

Los diseños factoriales son más eficientes que el emplear la estrategia de variar un factor a la vez ya que con un menor número de observaciones obtenemos información confiable sobre los efectos principales y sus interacciones (16).

El más importante de los diseños factoriales ocurre cuando se tienen k factores cada uno con dos niveles. Estos niveles pueden ser cuantitativos (valores de temperatura) o cualitativos (máquinas, operadores). Este diseño se conoce como diseño 2^k .

En este diseño se supone que los factores son fijos, con experimentos completamente aleatorizados, satisfaciendo la suposición de normalidad y además que la respuesta es aproximadamente lineal en el intervalo de niveles elegidos (17, 18).

Arbitrariamente los niveles del factor pueden llamarse "inferior" o "superior", codificándose como niveles "-" y "+" respectivamente.

El efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta producida por un cambio en el nivel de ese factor, promediado sobre los niveles del otro factor. Este se conoce

como efecto principal porque se refiere a los factores de interés primordial del experimento. En algunos experimentos puede encontrarse que la diferencia en la respuesta entre los niveles de un factor no es la misma en todos los niveles de los otros factores. Cuando esto ocurre existe una interacción entre los factores. Una interacción significativa oculta a menudo el significado de los efectos principales (16).

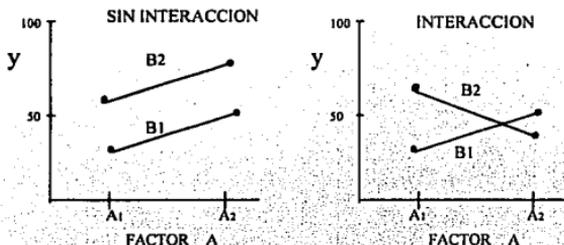


FIGURA No. 7 DISEÑO BIFACTORIAL

Por convención, el efecto de un factor se denota con la letra latina mayúscula. "A" es el efecto principal de un factor y AB una interacción entre dos factores.

Las combinaciones de tratamientos en el diseño suelen representarse por letras minúsculas.

La presencia de una letra minúscula indica que dicho factor se encuentra en el nivel alto, su ausencia indica que el factor se encuentra en el nivel bajo. Para indicar que todos los factores se encuentran en el nivel bajo se usa el signo (1). (Ver figura no. 8)

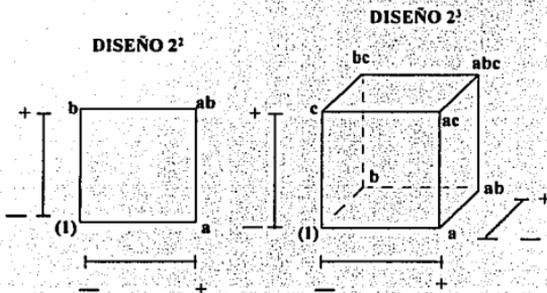


FIGURA No. 8 GEOMETRIA DE LOS DISEÑOS FACTORIALES

Es adecuado escribir el diseño en forma estándar donde las combinaciones de tratamientos se ordenan introduciendo los factores de uno en uno y combinando sucesivamente cada nuevo factor con los anteriormente introducidos. Al final se coloca la combinación (1). Por ejemplo:

TABLA III DISEÑO FACTORIAL 2^2

COMBINACION DE TRATAMIENTOS	A	B
(1)	-	-
a	+	-
b	-	+
ab	+	+

TABLA IV DISEÑO FACTORIAL 2^3

COMBINACION DE TRATAMIENTOS	A	B	C
(1)	-	-	-
a	+	-	-
b	-	+	-
ab	+	+	-
c	-	-	+
ac	+	-	+
bc	-	+	+
abc	+	+	+

En los experimentos factoriales se examina la magnitud y la dirección de los efectos de los factores para determinar cuales variables son de importancia. Por lo general puede emplearse el análisis de varianza para confirmar esta interpretación. El cálculo de los efectos puede realizarse por regresión múltiple o directamente usando contrastes ortogonales (ver apéndice E). El contraste de un efecto se observa mejor gráficamente (Figura No 9) (16, 17).

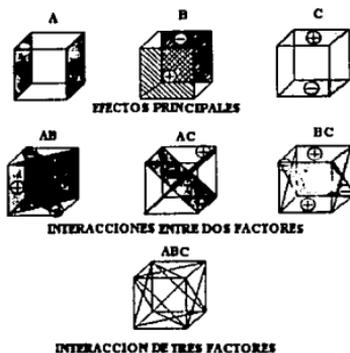


FIGURA No. 9 REPRESENTACION GEOMETRICA DE LOS CONTRASTES

10.1.- PRINCIPIO DE DISPERSIBILIDAD DE EFECTOS

El error puro para el ANOVA necesita para estimarse de puntos de réplica del diseño. Sin embargo esta consideración aumentaría sustancialmente los puntos experimentales del diseño. Frecuentemente los recursos disponibles permiten ejecutar sólo una vez el experimento. En estos casos se opta por suponer que ciertas interacciones de orden superior son despreciables y se combina su suma de cuadrados para estimar el error. Este es el principio de dispersibilidad de efectos el cual indica que la mayoría de los sistemas son dominados por los efectos principales e interacciones de bajo orden, mientras que las interacciones de orden superior carecen de importancia.

Una forma de detectar la importancia de los efectos y/o las interacciones de los factores sobre el sistema consiste en graficar los efectos en papel de probabilidad normal. Los efectos que son despreciables se distribuyen normalmente, con media cero y varianza σ^2 y tienden a ubicarse a lo largo de una línea recta en esta gráfica, mientras que los efectos significativos se ubicarán alejados de dicha línea (17).

10.2.- DISEÑOS FACTORIALES FRACCIONADOS

A medida que el número de factores en un diseño factorial 2^k aumenta el número de ensayos sobrepasa rápidamente los recursos en la mayoría de los investigadores. Basándose en el principio de dispersibilidad de efectos el experimentador puede obtener información de los efectos principales y las interacciones de bajo orden realizando sólo una fracción del experimento factorial completo. Estos diseños factoriales fraccionados se usan frecuentemente como experimentos de escrutinio o tamiz y en algunos casos cuando empíricamente se detectan los factores importantes contribuyen también a la optimización de procesos (20).

10.2.1.- Fracción un medio y un cuarto

Considerando el caso en el que se estudian K factores a dos niveles cada uno en el que el experimentador no decide realizar el factorial completo, pero puede realizar la mitad del diseño, la fracción obtenida se denomina un diseño factorial 2^{k-1} .

Cuando el experimentador decide realizar una cuarta parte de un factorial completo el diseño se conoce como fracción 2^{k-2} .

Cuando se emplean fracciones de los diseños factoriales es muy común que el cálculo de algunos efectos se vea confundido con otros efectos. Se dice que existen efectos confundidos o "alias" cuando los contrastes obtenidos para un factor son idénticos a otro.

En estos casos es necesario determinar el *generador o relación definitoria* del diseño.

El generador se refiere a la combinación de tratamientos del diseño fraccionado que presente signos idénticos a la columna identidad. Por ejemplo en la tabla de signos del diseño 2^3 (apéndice E), el generador es ABC porque esta combinación de tratamientos presenta signos iguales a la columna I.

El generador nos sirve para determinar cuales efectos se confunden por ejemplo: Si deseamos calcular el efecto de A entonces se multiplica el efecto por el generador $I = ABC$ de la siguiente manera:

$$A(I) = A(ABC)$$

$A = A^2BC$ pero como el cuadrado de cualquier columna siempre es la identidad tenemos que $A = BC$ esta es una "alia" en el diseño.

De esta manera podemos encontrar la fracción principal del diseño establecida por el generador $I = +ABC$.

Esta fracción tiene su complementaria definida por $I = -ABC$ ambas forman el diseño 2^3 completo.

10.3.- RESOLUCION DEL DISEÑO

Un diseño es de resolución R si ningún efecto de p factores esta confundido con otro efecto que tenga menos de R - p factores.

Por ejemplo en un diseño de resolución III ($R = 3$) ningún efecto de **1 factor** ($p = 1$) (efecto principal) esta confundido con otro efecto que tenga **menos de $(3 - 1) = 2$ factores** (Interacción).

Como un efecto que tiene menos de 2 factores es un efecto de 1 factor (efecto principal), las únicas confusiones son entre efectos principales (1 factor) e interacciones de dos factores. Un ejemplo es el diseño factorial fraccionado 2^{3-1} .

Por lo general se deben usar diseños fraccionados con la mayor resolución posible con el fraccionamiento requerido (16, 17).

CAPITULO II

PARTE EXPERIMENTAL

ANTECEDENTES Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se han reportado diversos inconvenientes en la manufactura, almacenamiento y distribución de óvulos vaginales con bases lipofílicas debido fundamentalmente a que son mantenidos a temperaturas que favorecen la fusión de la base.

Estas condiciones provocan la separación del principio activo y la deformación de la unidad farmacéutica en el contenedor.

Incluso en países con climas como el nuestro es muy común que el consumidor o paciente almacene en forma inadecuada el medicamento encontrándose después con productos de apariencia tal que desconfíe en su administración.

En base a la necesidad de aumentar la temperatura de fusión de las bases, evitando los inconvenientes mencionados, se propuso el desarrollo de tres formulaciones para óvulos vaginales empleando polietilenglicoles como bases.

Estos polímeros hidrosolubles cubren un gran rango de estados físicos, solubilidades, puntos de fusión y otras propiedades fisicoquímicas dependientes de su peso molecular.

Como sabemos las bases para óvulos tienen un papel importante en la liberación del principio activo y por lo tanto influyen en la disponibilidad del fármaco ya sea al absorberse para efectos sistémicos o para su disponibilidad local.

Para alcanzar nuestros objetivos se requiere el análisis conjunto de las características físicas, fisicoquímicas, y farmacéuticas de las formulaciones desarrolladas, así como de las diferentes condiciones involucradas en su manufactura.

Es necesario el empleo de experimentos estadísticamente diseñados que optimicen la investigación y garanticen la objetividad de los resultados.

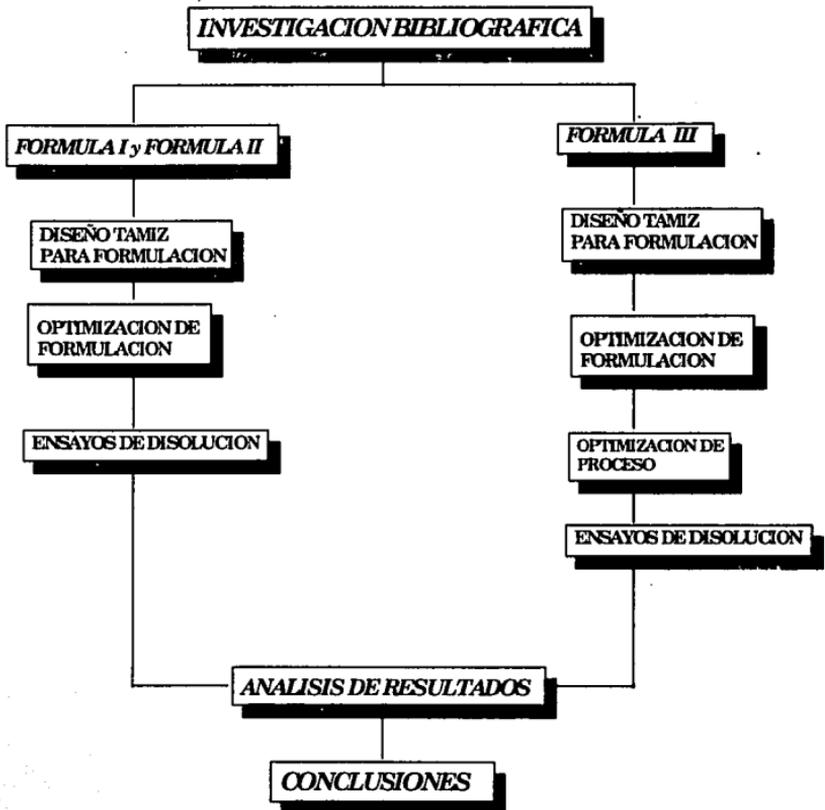
El problema a resolver será obtener formulaciones (óvulos) con las siguientes características:

- 1.- Apariencia aceptable.
- 2.- No presenten incompatibilidades físicas ni químicas.
- 3.- Resistan su manipulación
- 4.- Presenten potencia y homogeneidad de contenido del principio activo dentro de límites aceptables.
- 5.- Resistan el almacenamiento a temperaturas mayores a 40°C sin fusión de la base ni degradación considerable del principio activo.

Además se estudia la liberación in vitro de los principios activos por disolución de la base. Se proponen ensayos de disolución en las fórmulas tentativas empleando métodos experimentales, ya que no se ha establecido oficialmente una metodología para estudiar la disolución en estas formas farmacéuticas (26, 27).

De acuerdo a estos planteamientos se elaboró un plan de trabajo que a continuación se presenta.

DIAGRAMA DE PLAN DE TRABAJO



El presente trabajo se realizó en los laboratorios SYNTEX, S.A. DE C.V. , en la Cd. de México D.F., en el departamento de Desarrollo Farmacéutico.

Se trabajó con tres formulaciones de óvulos indicadas para el tratamiento local de cervicovaginitis infecciosa, contemplando para las dos primeras fórmulas la optimización de la fórmula y para la tercera incluso la optimización del proceso de manufactura.

La parte experimental se reporta a continuación dividida en cuatro secciones:

I.- FORMULAS A DESARROLLAR

Principio(s) activo(s) involucrado (s)

Concentración de principio(s) activo(s) en la fórmula

Uso terapéutico

II.- MATERIALES Y EQUIPO

Materias primas

Material de empaque primario

Equipo de manufactura

Reactivos analíticos

Equipo analítico

III.- METODOLOGIA

Método general para manufactura

Metodología analítica: (evaluaciones físicas, evaluaciones químicas, disolución y ciclados)

Metodología estadística

IV.- ACTIVIDADES Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se desglosa el desarrollo de las formulaciones, la secuencia experimental y el curso de acción para cada fase.

I.- FORMULAS A DESARROLLAR

FORMULA I (NITROFURAZONA)

Esta fórmula contiene como principio activo la nitrofurazona a una concentración de 6 mg por óvulo de 1.35 g como peso promedio.

Está indicada para el tratamiento local de cervicovaginitis de origen bacteriano.

FORMULA II (NISTATINA)

Esta fórmula contiene como principio activo la nistatina a una concentración de 120 000 UI por óvulo de 1.40 g como peso promedio.

Está indicada para el tratamiento local de cervicovaginitis de origen micótico (Candidiasis vaginal).

FORMULA III

ACETONIDO DE FLUOCINOLONA, METRONIDAZOL Y NISTATINA.

Esta fórmula contiene como principios activos los siguientes:

ACETONIDO DE FLUOCINOLONA a una concentración de 0.5 mg

METRONIDAZOL a una concentración de 500 mg.

NISTATINA a una concentración de 0.115 MU

por óvulo de 1.50 g como peso promedio.

Está indicada para el tratamiento local de cervicovaginitis de origen mixto (parasitario, bacteriano y micótico).

Es una fórmula que presenta problemas al fabricarse debido fundamentalmente a la alta proporción de principios activos insolubles en la base.

II.- MATERIALES Y EQUIPO

MATERIAS PRIMAS

- Nitrofurazona, FEUM
- Nistatina, FEUM potencia teórica 5.5 BU/Kg
- Acetónido de fluocinolona, FEUM
- Metronidazol, FEUM
- Polietilenglicol 400, NF
- Polietilenglicol 1000, NF
- Polietilenglicol 1500, NF
- Polietilenglicol 3350, NF
- Polietilenglicol 6000, NF
- Agua purificada, FEUM

MATERIAL DE EMPAQUE PRIMARIO

- Contenedores para óvulos de cloruro de polivinilo atóxico

EQUIPO DE MANUFACTURA

- Agitadores de propela
- Balanza de 0.01 g de sensibilidad
- Balanza analítica
- Baño de temperatura controlada
- Equipo para hermeticidad de contenedores
- Homogeneizador
- Jeringas de vidrio de 20 mL de capacidad
- Selladora de supositorios y óvulos automatizada
- Termómetros
- Vasos de precipitados de 250 mL, 500 mL y 1 L.

REACTIVOS ANALITICOS

- Estándar de referencia Nitrofurazona, FEUM
- Estándar de referencia Nistatina, FEUM
- Estándar de referencia Acetónido de fluocinolona, FEUM
- Estándar de referencia Metronidazol, USP
- Estándar interno Noretindrona, FEUM
- Estándar interno Benzocafna, USP
- Metanol R.A.
- Metanol HPLC

- Agua HPLC
- Acetonitrilo R.A.
- Acetonitrilo HPLC
- Acido acético glacial
- Acido clorhídrico 0.1 N
- Dimetilformamida R.A.

EQUIPO ANALITICO

- Aparato para determinación de tiempo de licuefacción de óvulos y supositorios
- Desintegrador de tabletas
- Dispositivo para determinación de Punto de Fusión Ascendente
- Equipo para determinación de resistencia a la fractura de óvulos y supositorios
- Espectrofotómetro UV
- Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de luz UV
- Integrador Hewlett Packard Mod. 3390
- Columna analítica Nucleosil C18 de 10 μ m de 250 mm x 4 mm
- Columna analítica Partisil ODS III de 250 mm x 4.6 mm
- Disolutor Hanson Research equipado con automuestreador y espectrofotómetro UV-Visible.

III.- METODOLOGIA

1.- METODO GENERAL DE MANUFACTURA DE LAS MEZCLAS

El metodo de manufactura empleado para la fabricaci3n de las mezclas fue mediante fusi3n de las bases.

1.1.- PROCEDIMIENTO:

- a) En un vaso de precipitados de volumen adecuado se incorporan segun el diseo las mezclas fisis de polietilenglicoles s3lidos y el PEG 400 pesados con exactitud en una balanza con sensibilidad de 0.01 g.
- b) Las mezclas son fundidas a una temperatura fija para todas las corridas, (establecida previamente con las mezclas de PEG 6000), garantizando su fusi3n r3pida y completa.
- c) Manteniendo una agitaci3n constante se incorpora el agua purificada procurando que su temperatura sea similar a la de la mezcla fundida de polietilenglicoles.
- d) Se disminuye la temperatura de la masa fundida a la m3nima posible (fija para todas las corridas) para evitar su solidificaci3n. Esta temperatura se establece emp3ricamente con las mezclas de PEG 6000.
- e) Se incorpora con agitaci3n constante el principio activo y se mezcla hasta homogeneizaci3n total.
- f) La masa es molida coloidalmente para disminuir y homogeneizar el tamao de part3cula de los s3lidos en suspensi3n incorporados.
- g) Mientras la masa se mantiene en agitaci3n procurando su homogeneizaci3n se llenan contenedores de PVC con la masa fundida a un cierto peso de acuerdo a la presentaci3n.
- h) Los contenedores del paso anterior son mantenidos a temperatura ambiente para la solidificaci3n de la masa y se sellan.
- i) Los contenedores son cortados en tiras de 10 3vulos cada una. Se dispone una parte del lote para montar en ciclados y una parte para an3lisis inicial.

2.- METODOLOGIA ANALITICA

2.1.- EVALUACION FISICA DE LOS OVULOS TERMINADOS

2.1.1.- Aspecto

La superficie debe ser regular y homogénea, lisa y sin fisuras. No debe presentar eflorescencia ni cristalización de los fármacos en la superficie.

Las anomalías y fisuras se advierten horas después de su enfriamiento.

La evaluación del *aspecto* involucra la observación física del óvulo al ser sacado del contenedor prestando atención en la adherencia al molde, la presencia de incompatibilidades, separación de fases (precipitación, sedimentación), grumos y fracturas (27).

2.1.2.- Tiempo de desintegración

El tiempo de desintegración se realizó empleando el mismo método que se describe en la USP XXI para tabletas, omitiéndose los discos (27).

Más que para observar una desintegración real de la forma farmacéutica esta prueba nos permitió comparar la disolución de las bases bajo las condiciones controladas de temperatura y tiempo de inmersión, trabajándose en un rango de pH de 4 a 5 acidulando agua purificada con HCl 0.1 N para un volumen de medio de 900 mL.

2.1.3.- Uniformidad de peso

Aunque teóricamente los sistemas de inyección liberan siempre el mismo volumen con cada óvulo, el peso de éstos puede variar por falta de calibración, por sedimentación de los polvos o por inclusión de aire.

Según la USP XXI deberá determinarse el peso individual y el promedio de 20 óvulos tomados aleatoriamente. No más de 2 de los pesos individuales podrá desviarse del promedio por más del 5% y ninguno deberá desviarse por más del 10% (27).

2.1.4.- Temperatura de fusión.

Al analizar el comportamiento de fusión de los óvulos se prefiere hablar de la determinación de un intervalo de fusión más que de un punto de fusión específico. Esto se debe a que por lo común existen variaciones infinitesimales en la proporción fármaco/excipientes de las muestras, aún siendo del mismo lote. Una mezcla de tal naturaleza como son los óvulos no presenta un punto de fusión preciso como lo sería para un componente puro.

El control del intervalo de fusión de un excipiente para supositorios precisa de un método riguroso efectuado en condiciones experimentales bien definidas. En realidad no existe ningún procedimiento normalizado y estándar, pero parece ser que el más idóneo es el **PFA o punto de fusión ascendente** (2, 3, 6).

Se considera como punto de fusión ascendente aquella temperatura a la cuál la columna del material fundido es empujada por una columna de agua hacia arriba por capilaridad como se describe en la figura No. 10:

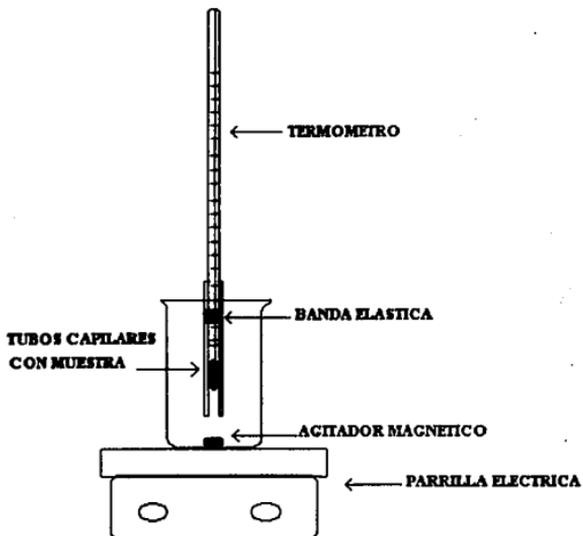


FIGURA No. 10 DISPOSITIVO PARA DETERMINACION DEL PUNTO DE FUSION ASCENDENTE

Procedimiento:

Dos capilares de vidrio abiertos por ambos extremos, de pared delgada (50-80 mm de longitud y 1-1.2 mm de anchura) se llenan, sumergiéndolos en la muestra previamente fundida, con una columna de muestra de 10 ± 1 mm de altura. Se deja solidificar esta columna directamente a temperatura ambiente. Después de 24 horas se sujetan dos de estos capilares a un termómetro calibrado (división $1/10^\circ$), de tal modo que las columnas de muestra se encuentren al mismo nivel que el bulbo de mercurio y se sumerge el

termómetro en un baño maría. La distancia desde el canto inferior de la muestra hasta la superficie de agua deberá ser de 4 cm.

A continuación se calienta uniformemente el baño maría a razón de 0.8 - 1.2°C/min, y se anota la temperatura en el momento en que se observe un ascenso incipiente de la columna de muestra en el capilar. Esta determinación se repite con 2 pares más de capilares y se calcula el promedio, que corresponde al punto de fusión de la muestra.

2.1.5.- Resistencia a la fractura.

La fragilidad de los óvulos es un problema que debe monitorizarse fundamentalmente en las etapas de desarrollo, tanto para la selección correcta de las bases como en el establecimiento de las condiciones del proceso que menos alteren la estructura del óvulo. La resistencia a la fractura suele indicarse como aquella carga en kilogramos que el cuerpo expuesto a prueba soporta, una vez llevado a una temperatura determinada sin romperse.

El punto de fractura se entiende como el máximo nivel de fuerza que soporta el óvulo causada por las condiciones de manejo en su producción, acondicionamiento, transporte y al ser administrado al paciente (2, 3).

Se determina con ayuda de un dispositivo de medición como el de la figura No. 11:

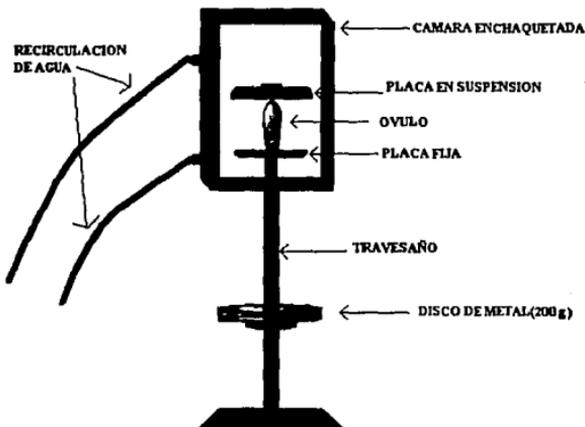


FIGURA No. 11 APARATO PARA DETERMINAR LA RESISTENCIA A LA FRACTURA

Procedimiento:

En este dispositivo se utilizan pesas colgantes para la medición. Sobre un tripode hay montada una placa, en la cuál se coloca el óvulo en posición vertical. Encima de este se hace descansar un travesaño fijado con guías laterales y en el cuál se ha dispuesto previamente una pieza de material sintético que responde en su forma a la punta del óvulo. A este travesaño con su dispositivo de suspensión que gravita sobre el óvulo se le dota de un peso inicial de 600 g, introduciendo la cantidad correspondiente de granalla de plomo en el casquillo roscable.

Luego para aplicar más peso se va aumentando la carga a intervalos de tiempo regulares (cada minuto) insertando en la guía discos de metal de 200 g.

Alrededor del óvulo hay montada una caja de doble pared enchaquetada conectada a un termostato para control de la temperatura (25°C) provista de una ventanilla de vidrio insertable para observar el procedimiento.

La resistencia a la fractura se evalúa como la máxima fuerza soportada a 25°C por el óvulo en Newtons, según:

$$F = m * G$$

En donde m = masa de los discos de metal

G = aceleración de la gravedad.

2.1.6.- Tiempo de licuefacción

Esta prueba se basa en la medición del tiempo en que un óvulo o supositorio se "licúa" liberando así él o los principios(s) activo(s) al medio simulando las condiciones "in vivo". El término "licuefacción" se refiere al fenómeno de ablandamiento de la unidad farmacéutica y al consiguiente mezclado con la fase líquida del medio.

Dicho ablandamiento puede deberse a fusión o disolución de la base dependiendo del mecanismo que cumpla para entregar el fármaco.

La licuefacción de la unidad farmacéutica es fundamental dada su contribución en la liberación del activo y por lo tanto en la disponibilidad sistémica o local del mismo.

El conocimiento del tiempo de licuefacción es esencial en óvulos o supositorios que incluyen fármacos para acción general y deben por lo tanto ser absorbidos.

La USP debe recomendar para estos productos un tiempo máximo de licuefacción tal cual como se establece para la desintegración de tabletas. Al menos físicamente el proceso de licuefacción puede compararse con la desintegración de tabletas. Ambos fenómenos facilitan la disposición del fármaco para poder ejercer su efecto (28).

Obviamente el diseño de un aparato para medir el tiempo de licuefacción para óvulos vaginales deberá reproducir fielmente las condiciones mecánicas y fisicoquímicas de la

vagina. Estas condiciones (temperatura, transmisión de calor, semipermeabilidad de las paredes, presión) pueden reproducirse en un tubo dializador semipermeable inmerso en agua a 37°C.

El aparato para determinar el tiempo de licuefacción consta de:

- a) Un cilindro de vidrio de 260 mm de longitud, con un diámetro externo de 50 mm, que se estrecha en cada extremo a un diámetro externo de 22 mm con una longitud de 30 mm. El cilindro presenta dos conexiones para entrada y salida de agua.
- b) Un tubo de celofán o colodión para diálisis de 34 a 35 mm de largo y con un diámetro al inflarse de 2.85 cm. Este tubo debe humedecerse, abrirse y entonces se monta por ambos extremos del cilindro de vidrio, quedando asegurado con bandas elásticas.
- c) Un baño de temperatura controlada para recircular agua a 37°C, conectado al cilindro de vidrio por dos mangueras de hule.
- d) Un termómetro con rango de escala de 30 a 45°C con divisiones de décima de grado.
- e) Un cronómetro
- f) Un soporte (Ver figura No. 12).

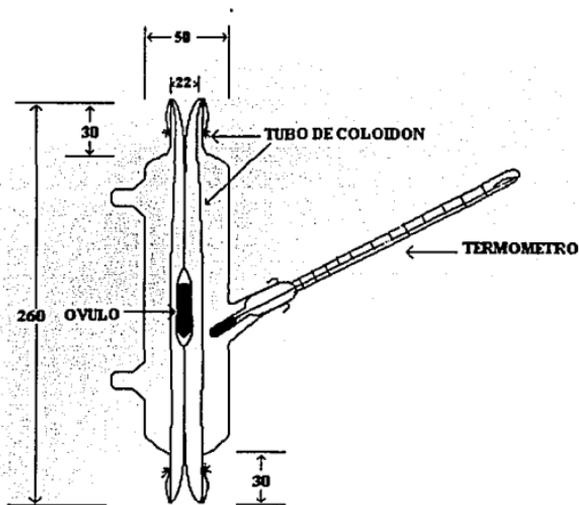


FIGURA No. 12 APARATO PARA DETERMINACION DEL TIEMPO DE LICUEFACCION

Procedimiento:

- a) Una vez montado el aparato sobre un soporte que permita su ascenso y descenso, se recircula agua a 37°C por el cilindro de manera que el tubo de coloidón se colapse debido a la presión hidrostática.
- b) Se introduce el óvulo muestra de tal manera que quede a mitad del tubo de coloidón, inmediatamente comienza a correr la prueba.
- c) El tiempo de licuefacción será aquel donde ningún residuo sólido permanezca en la membrana.

Esta prueba in vitro ha sido comparada con estudios radiológicos "in vivo" concordando al menos físicamente en la liberación de los principios activos incorporados a supositorios (28).

2.2.- EVALUACION QUIMICA DE LOS OVULOS TERMINADOS

2.2.1.- Contenido de nitrofurazona

Se evaluó contenido de nitrofurazona por óvulo mediante espectrofotometría UV.

Procedimiento

- a) Se prepara una curva estándar de calibración conteniendo tres diferentes concentraciones de nitrofurazona en metanol R.A. Estas concentraciones corresponden al 80%, 100% y 120%.

Las concentraciones son:

0.048 mg/mL 80%

0.060 mg/mL 100%

0.072 mg/mL 120%

La curva de calibración a 366 nm es la siguiente:

TABLA V CURVA DE CALIBRACION EN METANOL PARA DETERMINAR CONTENIDO DE NITROFURAZONA $\lambda=366$ nm

CONCENTRACION	ABSORBANCIA
80%	0.43967
100%	0.54701
120%	0.65163

- b) Una muestra de un óvulo es disuelta en un matraz aforado actínico con 50 mL de metanol en baño de ultrasonido por 5 minutos. Se afora a la marca con metanol y la muestra es leída espectrofotométricamente a una longitud de onda de 366 nm.

2.2.2.- Contenido de nistatina (potencia)

Se empleó el método descrito en la USP XXI (ensayos microbiológicos) para potencia de nistatina por difusión en placa. Dicho método consiste en demostrar la actividad (potencia) inhibitoria del antibiótico sobre un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* (27).

Procedimiento

- Una muestra conteniendo nistatina es disuelta en dimetilformamida para preparar una solución equivalente a 20 UI/mL. Esta solución muestra es colocada en pequeños cilindros sobre el medio, previamente inoculado con el microorganismo, junto con una curva de calibración preparada con nistatina estándar a cinco diferentes niveles.
- Se interpola el tamaño del halo de inhibición de la muestra en la curva de calibración para determinar la potencia del antibiótico.

2.2.3.- Contenido de acetónido de fluocinolona

Se evaluó contenido de acetónido de fluocinolona por óvulo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución a las siguientes condiciones cromatográficas:

TABLA VI CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA DETERMINACION DE CONTENIDO DE ACETONIDO DE FLUOCINOLONA

Columna	Partisil ODS III, 25 cm x 4.6 mm
Fase móvil	Solución ácido acético glacial al 1% : Acetonitrilo (60:40)
Velocidad de flujo	1.0 mL/min
Detector	UV 254 nm
Volumen de inyección	25 µL
Atenuación	64
Presión	2000 psi

Solución de referencia interna: Noretindrona en acetonitrilo (0.5 mg/mL)

Procedimiento

- Se prepara una curva estándar conteniendo tres diferentes concentraciones de acetónido de fluocinolona que corresponden al 80%, 100% y 120%. Cada solución estándar contiene 1 mL de la solución de estándar interno en un volumen total de 25 mL por lo cual la concentración de noretindrona en la curva es de 0.02 mg/mL.

Las concentraciones de acetónido de fluocinolona en la curva estándar son:

0.016 mg/mL	80%
0.020 mg/mL	100%
0.024 mg/mL	120%

- Solución problema: Un óvulo es disuelto con 10 mL de acetonitrilo en un matraz aforado de 25 mL. Se adiciona 1 mL de solución de referencia interna y se afora a la marca con acetonitrilo. La curva y la solución problema son inyectadas en el cromatógrafo. La cuantificación se realiza estimando la relación de áreas del problema y de la solución estándar correspondiente al 100%.

2.2.4.- Contenido de metronidazol

Se determinó contenido de metronidazol por óvulo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución a las siguientes condiciones cromatográficas:

TABLA VII CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA DETERMINACION DE CONTENIDO DE METRONIDAZOL

Columna	Nucleosil C18 10 µm de 250 mm x 4 mm
Fase móvil	Metanol : Agua (70:30)
Velocidad de flujo	1.0 mL/min
Presión	2000 psi
Detector	313 nm
Volumen de inyección	5 µL

Solución de referencia interna: Benzocaína en metanol (7.5 mg/mL)

Procedimiento

a) Se prepara una curva estándar conteniendo tres diferentes concentraciones de metronidazol que corresponden al 80%, 100% y 120%. Cada solución estándar contiene 1 mL de la solución de estándar interno en un volumen total de 25 mL por lo cual la concentración de benzocaína en la curva es de 0.3 mg/mL.

Las concentraciones de metronidazol en la curva estándar son:

0.24 mg/mL 80%

0.30 mg/mL 100%

0.36 mg/mL 120%

b) Solución problema: Un óvulo es disuelto con 50 mL de metanol R.A. en un matraz aforado de 100 mL. Se adiciona 4 mL de solución de referencia interna y se afora a la marca con metanol R.A.

La curva y la solución problema son inyectadas en el cromatógrafo.

La cuantificación se realiza estimando la relación de áreas del problema y de la solución estándar correspondiente al 100%.

NOTA:

En el análisis de acetónido de fluocinolona y metronidazol por HPLC la curva se evalúa calculando un factor de respuesta F:

$$F = (A_i/A_s) \times W$$

Donde:

A_i = Área de estándar interno en la solución estándar (Noretindrona o Benzocaína)

A_s = Área de acetónido de fluocinolona o metronidazol en la solución estándar de la curva de calibración.

W = peso del estándar

Este factor se calcula para todos los puntos de la curva (80% 100% y 120%) y el coeficiente de variación de los mismos no debe ser mayor al 1.5%.

De esta manera la respuesta del sistema cromatográfico se considera prácticamente lineal sobre la concentración de los estándares y la interpolación de la muestra problema podrá hacerse con un máximo del 1.5 % de error.

2.3.- DISOLUCION

Los ensayos para estudiar la velocidad de liberación del fármaco "in vitro" en óvulos y supositorios siempre plantean un problema debido a la variación de la interface masa/medio de disolución (4).

En un esfuerzo por controlar dicha variación se han empleado varios métodos, como canastillas, membranas naturales o tubos de diálisis, celdas de flujo continuo, entre otros (29).

La disolución o liberación del fármaco ha sido extensamente estudiada para tabletas y otras formas farmacéuticas orales.

La disolución ha mostrado ser el mejor parámetro in vitro para correlacionar la liberación del fármaco con su biodisponibilidad. Sin embargo para las formas farmacéuticas no orales, la disolución no ha sido suficientemente estudiada (30).

Se ha reportado el uso del método USP No. 1 de canastillas para disolución de óvulos con bases hidrosolubles. Este método ampliamente utilizado para llevar a cabo el ensayo de disolución de formas farmacéuticas orales (cápsulas) ha resultado ser reproducible también para óvulos y supositorios con bases de polietilenglicoles (26).

Sin embargo con excipientes lipofílicos se requiere utilizar canastillas modificadas, ya que estas bases al fundirse bloquean las aberturas de la malla en la canastilla. Para resolver dicho problema se utilizan canastillas de poliuretano (25, 31).

2.3.1.- Objetivo

Evaluar la liberación "in vitro" del principio activo por disolución de la base en agua bajo condiciones controladas de temperatura, volumen, pH, velocidad de agitación y superficie de intercambio.

2.3.2.- Procedimiento

Se empleó el método de disolución de canastilla rotatoria USP I para pruebas de disolución "in vitro" de formas farmacéuticas sólidas.

El medio de disolución fueron 900 mL de agua destilada desgasificada. La velocidad de agitación se fijó a 50 RPM.

Se empleo un disolutor Hanson research automatizado con espectrofotómetro UV y automuestreador integrados.

El automuestreador se programó para tomar alícuotas de 5 mL cada 5 minutos durante un tiempo de corrida establecido de 1 hora.

Dependiendo del activo a estudiar la concentración de las alícuotas se determinó de la forma siguiente:

a) **Nitrofurazona**

Interpolación de las absorbancias (corrigiéndose por pérdida de volumen) en una curva de calibración en agua destilada. Considerando que el 100% en la curva corresponde a la concentración alcanzada si se disolviese totalmente el activo (6 mg/óvulo) en los 900 mL del medio:

$$6 \text{ mg de nitrofurazona}/900 \text{ mL} = 6.67 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ \%}.$$

TABLA VIII CURVA DE CALIBRACION EN AGUA PARA DETERMINAR CONTENIDO DE NITROFURAZONA (DISOLUCION) $\lambda=366 \text{ nm}$

CONCENTRACION	ABSORBANCIA
80%	0.04205
100%	0.05281
120%	0.06179

Se calculó el % de principio activo en disolución en cada uno de los seis vasos. Se reportó el promedio y el C.V.

b) **Nistatina**

Interpolación de las absorbancias (corrigiéndose por pérdida de volumen) en una curva de calibración en agua destilada. Considerando que el 100% en la curva corresponde a la concentración alcanzada si se disolviese totalmente el activo (120 000 UI = 21.82 mg) en los 900 mL del medio:

$$21.82 \text{ mg}/900 \text{ mL} = 24.2 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100\%.$$

TABLA IX CURVA DE CALIBRACION PARA DETERMINAR CONTENIDO DE NISTATINA (DISOLUCION) $\lambda=306 \text{ nm}$

CONCENTRACION	ABSORBANCIA
80%	0.01105
100%	0.01469
120%	0.01774

c) Acetonido de fluocinolona

Se inyectaron las alícuotas en el sistema cromatográfico descrito para determinación de contenido de acetónido de fluocinolona por óvulo (ver punto 2.2.3) variando las concentraciones de la curva estándar incluyendo como 100 % la concentración alcanzada si se disolviese totalmente el activo (0.5 mg/óvulo) en los 900 mL del medio. Las concentraciones de acetónido de fluocinolona en la curva estándar son:

0.444 µg/mL	80%
0.555 µg/mL	100%
0.666 µg/mL	120%

La cuantificación se realiza estimando la relación de áreas del problema y de la solución estándar correspondiente al 100%. Se calculó el % de principio activo en disolución en cada uno de los seis vasos. Se reportó el promedio y el C.V.

d) Metronidazol

Se inyectaron las alícuotas en el sistema cromatográfico descrito para determinación de contenido de metronidazol por óvulo (ver punto 2.2.4) variando las concentraciones de la curva estándar incluyendo como 100 % la concentración alcanzada si se disolviese totalmente el activo (500 mg) en los 900 mL del medio. Las concentraciones de metronidazol en la curva estándar son:

0.444 mg/mL	80%
0.555 mg/mL	100%
0.666 mg/mL	120%

La cuantificación se realiza estimando la relación de áreas del problema y de la solución estándar correspondiente al 100%. Se calculó el % de principio activo en disolución en cada uno de los seis vasos. Se reportó el promedio y el C.V.

2.4.- CICLADOS

Dentro de los estudios de estabilidad para los medicamentos se considera útil el estudiar las diferentes condiciones a las que el producto terminado podría estar expuesto durante su distribución o almacenamiento.

Dado que estas condiciones pueden variar considerablemente, ya sea por no tener las precauciones debidas o por ignorancia del usuario, el producto puede verse afectado física y químicamente de múltiples formas.

Para simular dichas condiciones de manera práctica se han establecido programas de estabilidad en los cuales se almacena el producto la mitad del tiempo a una condición (temperatura, humedad, intensidad luminosa) y la mitad del tiempo a otra condición diferente. (Generalmente la mitad de un día a cada condición de estudio cambiándose de

condición continuamente durante todo el periodo). A este procedimiento se le denomina ciclado.

Por ejemplo la condición: T.A.(70 % HR)/45°C (2000 luxes) se refiere al ciclado en el cual la mitad del tiempo se almacena el producto a temperatura ambiente con una humedad relativa del 70% y la otra mitad del periodo a 45°C bajo una intensidad luminosa de 2000 luxes.

3.- METODOLOGIA ESTADISTICA

3.1.- ELECCION DEL DISEÑO

Se emplearon paquetes computacionales para experimentos estadísticamente diseñados (Design-Easy y Design-Expert) para elección del diseño en base a los objetivos planteados en cada fase.

Por ejemplo para una fase de escrutinio inicial para mezclas se puede elegir mediante Design-Expert un diseño simplex lattice que permita identificar la importancia de los componentes individuales. También por ejemplo para optimizar un proceso, puede emplearse Design-Easy que permite modelizar el sistema en base a un diseño factorial fraccionado y Design-Expert para establecer una superficie de respuesta con dicho modelo.

Aquí se establecen los límites y niveles de estudio de las variables independientes, el orden aleatorio de las corridas y si se desea, también puede dividirse la matriz experimental en bloques aleatorizados más homogéneos (días diferentes, lotes de materia prima diferentes).

3.2.- ANALISIS DEL DISEÑO

Después de recopilar las variables dependientes (respuestas) los programas estadísticos nos sirven para analizar los diseños establecidos.

Primero se despliega la tabla del ANOVA para elección del modelo. Dicha tabla muestra la descomposición de la variación total en sus componentes principales. Estos pueden deberse al error experimental o al efecto de los parámetros de la regresión según el modelo propuesto.

A continuación se muestra un análisis de los coeficientes (prueba t) para probar la hipótesis $H_0: \beta = 0$ discriminando en forma particular a los componentes o factores del diseño considerados nulos o sin importancia.

También se analizan los residuos para establecer la idoneidad del modelo. Además el programa grafica la superficie de respuesta según el modelo elegido y presenta las zonas óptimas para las respuestas.

IV.- ACTIVIDADES Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

La secuencia empleada para el desarrollo y optimización de las tres formulaciones es en general la siguiente:

- a) Establecimiento de los objetivos de la fase experimental.
- b) Selección de variables independientes (componentes o factores) así como de sus rangos y/o niveles de estudio.
- c) Elección del diseño y matriz experimental.
- d) Selección de variables dependientes (respuestas).
- e) Realización de las corridas experimentales.
- f) Recopilación de respuestas (resultados análisis físico, químico, organoléptico).
- g) Análisis estadístico de los datos obtenidos, construcción de modelos y superficies de respuesta.
- h) Localización de zonas óptimas, eliminación de variables dependientes no importantes y/o establecimiento de nuevos rangos de estudio.
- i) Conclusiones de la fase y recomendaciones a seguir.

1.- FORMULA I (NITROFURAZONA)

1.1.- FASE I DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

a) Objetivos

En este diseño inicial de escrutinio se planteó como objetivo seleccionar los componentes y mezclas de polietilenglicoles más adecuados cubriendo un rango de pesos moleculares entre 400 y 6000. Además incluyendo agua a un nivel constante con el objetivo de contrarrestar la higroscopicidad de los PEGS.

b) Antecedentes

Se realizaron pruebas preeliminares fabricando mezclas de PEG 400 (líquido a temperatura ambiente) con PEG 6000 en proporciones 20% y 80% respectivamente encontrándose que se obtenían consistencias demasiado blandas.

c) Variables independientes

Se trabajó con un nivel constante de PEG 400 al 10%

También según lo recomendado en la bibliografía (2) y mediante pruebas preeliminares se fijó un nivel de agua purificada en la formulación del 5%.

Las variables-independientes (componentes) que se estudiaron en esta etapa son:

Componentes variables

POLIETILENGLICOL 1000, NF
 POLIETILENGLICOL 1500, NF
 POLIETILENGLICOL 3350, NF
 POLIETILENGLICOL 6000, NF

Componentes constantes

AGUA 5%
 PEG 400 10%

d) Diseño

Se eligió un diseño simple lattice de segundo grado con un total de 10 experimentos.

El diseño es el siguiente:

TABLA X DISEÑO TAMIZ PARA FORMULA I

CORRIDA	PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000
1	0	0	0.5	0.5
2	0	0	0	1
3	0.5	0	0.5	0
4	0	0.5	0	0.5
5	0	1	0	0
6	0.5	0.5	0	0
7	0.5	0	0	0.5
8	1	0	0	0
9	0	0.5	0.5	0
10	0	0	1	0

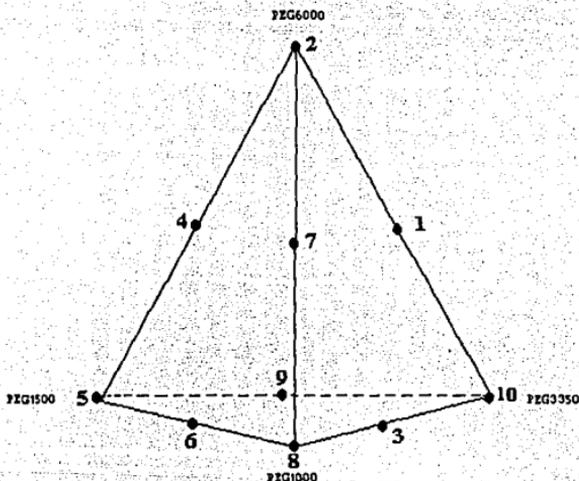


FIGURA No. 13 DISEÑO SIMPLE CUADRÁTICO PARA CUATRO COMPONENTES (LOCALIZACION DE LAS CORRIDAS EXPERIMENTALES)

Componentes variables

POLIETILENGLICOL 1000, NF
 POLIETILENGLICOL 1500, NF
 POLIETILENGLICOL 3350, NF
 POLIETILENGLICOL 6000, NF

Componentes constantes

AGUA 5%
 PEG 400 10%

d) Diseño

Se eligió un diseño simplex lattice de segundo grado con un total de 10 experimentos.

El diseño es el siguiente:

TABLA X DISEÑO TAMIZ PARA FORMULA I

CORRIDA	PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000
1	0	0	0.5	0.5
2	0	0	0	1
3	0.5	0	0.5	0
4	0	0.5	0	0.5
5	0	1	0	0
6	0.5	0.5	0	0
7	0.5	0	0	0.5
8	1	0	0	0
9	0	0.5	0.5	0
10	0	0	1	0

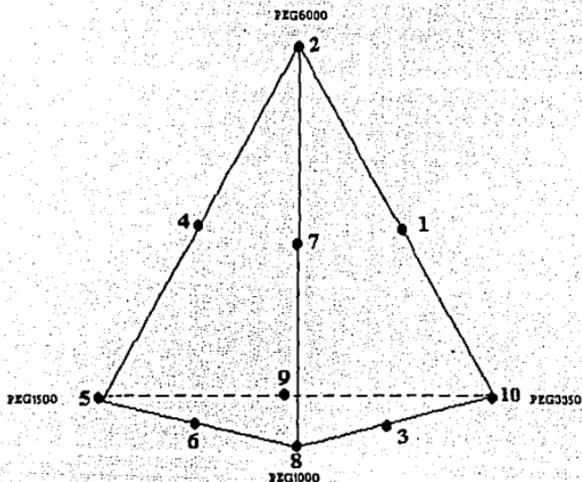


FIGURA No. 13 DISEÑO SIMPLEX CUADRÁTICO PARA CUATRO COMPONENTES (LOCALIZACION DE LAS CORRIDAS EXPERIMENTALES)

e) Variables de respuesta

En esta fase las variables de respuesta fueron:

TIEMPO DE DESINTEGRACION
RESISTENCIA A LA FRACTURA
TIEMPO DE LICUEFACCION
TEMPERATURA DE FUSION

NOTA:

Según los resultados obtenidos para el **aspecto físico** se evaluó básicamente la presencia de incompatibilidad (oscurecimiento). Se propuso una escala del 0 al 4 donde:

0 = café obscuro

2 = color ámbar

4 = Sin cambio (amarillo pálido)

f) Realización de las corridas experimentales (fabricación).

Al fabricar los primeros lotes se observó que la nitrofurazona es totalmente soluble a esta concentración en todas las mezclas de polietilenglicoles ensayadas. Por lo cual el producto obtenido presenta una apariencia amarilla translúcida.

Se cicló por 15 días una muestra de cada lote a las siguientes condiciones:

T.A./45°C

T.A./60°C

1.2.- FASE II OPTIMIZACION DE LA FORMULA.

a) Objetivo

Ajuste fino de la fórmula con los componentes de importancia y con rangos de estudio más estrechos determinando la región que conduzca a las mejores respuestas posibles.

Particularmente el objetivo fue seleccionar mezclas con menor tiempo de licuefacción (<20 min) y desintegración (<12 min) así como aquellas que presenten resistencias a la fractura mayores a 15 N.

b) Antecedentes

Según los resultados obtenidos para la fase I (ver tabla XIX) empleando el criterio de seleccionar mezclas con menor tiempo de desintegración y licuefacción, se optó por lo siguiente:

- 1.- Se descartan las mezclas que presentan cambio de color. Esto condujo a la eliminación del componente PEG 6000.
- 2.- Se descartan las mezclas con puntos de fusión inferiores a 45°C que incluso no soportaban los ciclados.(Mezclas con PEG 1000).

3.- De acuerdo a las superficies de respuesta se obtuvieron rangos de estudio con mezclas que presentarían una fuerza de fractura superior a 15 N con los menores tiempos de licuefacción (<20 minutos), sin aparente degradación del principio activo y que soportaran los cicladós.

c) Variables independientes

Al ser descartados los componentes PEG 1000 y PEG 6000 se propuso además experimentar con los componentes fijos en la primera fase (AGUA y PEG400) en intervalos de composición estrechos con el fin de optimizar principalmente el tiempo de licuefacción y la desintegración sin disminuir la resistencia a la fractura. Los rangos de estudio para esta fase fueron:

TABLA XI RANGOS DE ESTUDIO OPTIMIZACION FORMULA I

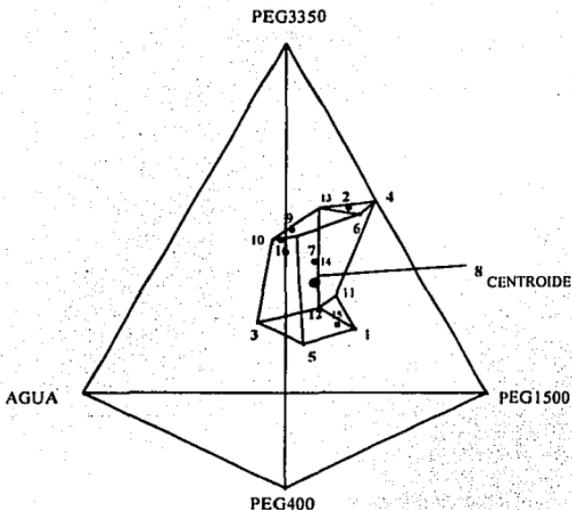
COMPONENTE	NIVEL BAJO	NIVEL ALTO
AGUA	5%	10%
PEG400	5%	15%
PEG1500	25%	45%
PEG3350	40%	60%

d) Diseño

Se propuso experimentar con un diseño simplex restringido D-optimal de segundo grado contando con 10 vértices, cinco puntos medios entre aristas y el centroide total.

**TABLA XII
DISEÑO D-OPTIMAL DE SEGUNDO GRADO**

CORRIDA	AGUA	PEG 400	PEG 1500	PEG 3350	TIPO DE PUNTO
1	0.050	0.100	0.450	0.400	VERTICE
2	0.075	0.050	0.275	0.600	MEDIO ENTRE 4 Y 13
3	0.100	0.150	0.350	0.400	VERTICE
4	0.050	0.050	0.300	0.600	VERTICE
5	0.050	0.150	0.400	0.400	VERTICE
6	0.050	0.100	0.250	0.600	VERTICE
7	0.050	0.150	0.250	0.550	VERTICE
8	0.070	0.100	0.340	0.490	CENTROIDE TOTAL
9	0.100	0.100	0.250	0.550	MEDIO ENTRE 10 Y 13
10	0.100	0.150	0.250	0.500	VERTICE
11	0.050	0.050	0.450	0.450	VERTICE
12	0.100	0.050	0.450	0.400	VERTICE
13	0.100	0.050	0.250	0.600	VERTICE
14	0.100	0.050	0.350	0.500	MEDIO ENTRE 12 Y 13
15	0.075	0.075	0.450	0.400	MEDIO ENTRE 1 Y 12
16	0.075	0.150	0.250	0.525	MEDIO ENTRE 7 Y 10



**FIGURA No. 14 DISEÑO D-ÓPTIMO DE SEGUNDO GRADO
(LOCALIZACIÓN DE LAS CORRIDAS EXPERIMENTALES)**

e) Variables de respuesta

TIEMPO DE DESINTEGRACION
RESISTENCIA A LA FRACTURA
TIEMPO DE LICUEFACCION
TEMPERATURA DE FUSION

f) Realización de las corridas experimentales (fabricación).

Al analizar el aspecto físico del producto final se detectó la presencia de pequeñas burbujas de aire incorporadas en la agitación.

Este problema se encontró en todas las mezclas, sin embargo su presencia fue más evidente a ciertas composiciones.

g) Análisis del diseño y optimización del aspecto físico

De acuerdo a los resultados y a la superficie de respuestas óptimas (ver resultados y análisis) se obtuvo una fórmula tentativa. El problema de la incorporación de aire fue resuelto mediante la incorporación de Crospovidona, USP.

Este excipiente comúnmente ocupado como desintegrante para tabletas, se propuso originalmente para optimizar la desintegración de la fórmula tentativa. Se ha reportado el

uso de polivinilpirrolidonas insolubles para incrementar la velocidad de liberación de supositorios de acetaminofén con bases de polietilenglicoles (31, 32).

En nuestro caso se encontró que mediante la adición de Crospovidona, USP a una concentración del 5% evitó por completo la incorporación de aire.

h) Fabricación de lote prueba

Se fabricó un lote de 750 piezas (1.012 Kg) con el 5% de crospovidona.

Esta fórmula fue sometida a ciclados por un mes a las siguientes condiciones:

T.A./37°C

T.A./45°C

Se evaluó la apariencia física de las muestras encontrándose que soportan las condiciones por lo menos durante el programa de estabilidad montado a un mes.

1.3.- ANALISIS QUIMICO Y DISOLUCION

Al término de la fase II se realizó el análisis químico de la formulación tentativa.

También se realizaron pruebas de disolución con dicha fórmula empleando el método descrito para nitrofurazona (ver punto 2.3.2 de la metodología analítica).

2.- FORMULA II (NISTATINA)

2.1.- FASE I DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

a) Objetivos

En este diseño inicial tamiz se planteó como objetivo seleccionar los componentes y mezclas de polietilenglicoles más convenientes entre un rango de pesos moleculares de 400 a 6000. Además incluyendo agua para contrarrestar la higroscopicidad de los PEGS.

b) Antecedentes

Se realizaron pruebas preliminares fabricando mezclas de PEG 400 (líquido a temperatura ambiente) con PEG 6000 en proporciones 20% y 80% respectivamente encontrándose que se obtenían consistencias demasiado blandas.

c) Variables independientes

Componentes variables

POLIETILENGLICOL 1000, NF
POLIETILENGLICOL 1500, NF
POLIETILENGLICOL 3350, NF
POLIETILENGLICOL 6000, NF

Componentes constantes

AGUA 5%
PEG 400 10%

d) Diseño

Se eligió un diseño simplex lattice de segundo grado con un total de 10 experimentos.

El diseño empleado se muestra en la tabla XIII

TABLA XIII DISEÑO TAMIZ PARA FORMULA II

CORRIDA	PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000
1	0.5	0.5	0	0
2	0.5	0	0	0.5
3	1	0	0	0
4	0.5	0	0.5	0
5	0	0	1	0
6	0	0.5	0	0.5
7	0	0	0.5	0.5
8	0	0.5	0.5	0
9	0	0	0	1
10	0	1	0	0

e) Variables de respuesta

En esta fase las variables de respuesta fueron:

TIEMPO DE DESINTEGRACION

TIEMPO DE LICUEFACCION

TEMPERATURA DE FUSION

POTENCIA DE NISTATINA (ENSAYO MICROBIOLÓGICO)

RESISTENCIA A LA FRACTURA

NOTA:

El **aspecto físico** de las mezclas dependió mucho en este caso de la consistencia o **resistencia a la fractura** del óvulo, por lo cual se analiza unicamente esta última repuesta evaluándose implícitamente la primera.

f) Realización de las corridas experimentales.

En este caso se observó que la nistatina es insoluble en los polietilenglicoles formándose una suspensión del polvo en la base fundida.

Se cicló por 15 días una muestra de cada lote a las siguientes condiciones:

T.A./37°C

T.A./45°C

2.2.- FASE II OPTIMIZACION DE LA FORMULA.

De acuerdo a las superficies de respuestas se obtuvieron dos fórmulas tentativas empleando el criterio de seleccionar mezclas con menor tiempo de desintegración (<11 min) y licuefacción (<20 min), así como aquellas que presenten fuerzas de fractura adecuadas que resistan su manipulación (>15 N).

2.2.1.- Fabricación de lotes de prueba

Se fabricaron dos lotes de prueba para las fórmulas tentativas cada uno de 700 g (500 pzas). Al término se evaluaron físicamente y se eligió aquella que presentara menor tiempo de licuefacción-desintegración con la fuerza de fractura más alta. De acuerdo a los resultados se eligió la fórmula A (ver tabla XXIV).

Se montó en estabilidad por 1 mes a las siguientes condiciones:

T.A./37°C

T.A./45°C

2.3.- ANÁLISIS QUÍMICO Y DISOLUCIÓN

Al término de la fase II se realizó el análisis químico (potencia de nistatina) de la formulación tentativa, análisis inicial y después de ciclar.

También se realizaron pruebas de disolución con dicha fórmula empleando el método descrito para nistatina en el punto 2.3.2 de la metodología analítica.

3.- FORMULA III ACETONIDO DE FLUCINOLONA, METRONIDAZOL Y NISTATINA.

3.1.- FASE I DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

a) Objetivos

En este diseño inicial tamiz se planteó como objetivo seleccionar los componentes y mezclas de polietilenglicoles más convenientes entre un rango de pesos moleculares de 400 a 6000. Además incluyendo agua al 5% para contrarrestar la higroscopicidad de los PEGS.

b) Antecedentes

Se realizaron pruebas preliminares fabricando mezclas de PEG 400 (líquido a temperatura ambiente) con PEG 6000 en proporciones 20% y 80% respectivamente encontrándose que se obtenían consistencias demasiado blandas.

c) Variables independientes

Componentes variables

POLIETILENGLICOL 1000, NF
POLIETILENGLICOL 1500, NF
POLIETILENGLICOL 3350, NF
POLIETILENGLICOL 6000, NF

Componentes constantes

AGUA 5%
PEG 400 10%

d) Diseño

Se eligió un diseño simplex lattice de segundo grado con un total de 10 experimentos. El diseño se muestra en la tabla XIV

TABLA XIV DISEÑO TAMIZ PARA FORMULA III

CORRIDA	PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000
1	0	0.5	0.5	0
2	0	0	1	0
3	1	0	0	0
4	0.5	0	0.5	0
5	0.5	0.5	0	0
6	0	0	0	1
7	0	0.5	0.5	0
8	0.5	0	0.5	0
9	0.5	0	0	0.5
10	0	1	0	0

e) Variables de respuesta

En esta fase las variables de respuesta fueron:

TIEMPO DE DESINTEGRACION
TIEMPO DE LICUEFACCION
TEMPERATURA DE FUSION
RESISTENCIA A LA FRACTURA

NOTA:

El **aspecto físico** de las mezclas dependió mucho en este caso de la **consistencia o resistencia a la fractura** del óvulo, por lo cual se analiza únicamente esta última respuesta evaluándose implícitamente la primera.

f) Realización de las corridas experimentales (fabricación).

En este caso se observó que el acetónido de fluocinolona es soluble a esta concentración en la todas las mezclas ensayadas. La nistatina y el metronidazol forman una suspensión en la base fundida. También es importante destacar que el tamaño de partícula del metronidazol aunado a su alta proporción en la fórmula (1/3) presenta graves inconvenientes para su correcta homogeneización, facilitándose su sedimentación y demezclado.

Se cicló por 15 días una muestra de cada lote a las siguientes condiciones:

T.A./37°C

T.A./45°C

Encontrándose que en general para las muestras que funden a tales temperaturas presentan separación de fases (sedimentación) y deformación del óvulo.

3.2.- FASE II. OPTIMIZACION DE LA FORMULA.

a) Objetivo

Ajuste fino de la fórmula con los componentes de importancia y con rangos de estudio más estrechos determinando la región que conduzca a las mejores respuestas posibles.

Particularmente seleccionar mezclas con menor tiempo de licuefacción y desintegración así como aquellas que presenten fuerza de fractura adecuadas que resistan su manipulación.

b) Antecedentes

De acuerdo a las superficies de respuestas obtenidas para el primer diseño se eligió una zona experimental más estrecha estableciendo como límites superior aquellas mezclas que presenten tiempos de desintegración y licuefacción mínimos (10 min y 30 min respectivamente). El límite inferior serian aquellas mezclas que presenten resistencia a la fractura mayores a 10 N.

c) Variables independientes

Considerando incluir al PEG400 para optimizar el tiempo de licuefacción se restringió el simplex original ajustando los vértices de manera que se estableciera un balance entre las respuestas. Se obtuvo el siguiente espacio experimental:

TABLA XV RANGOS DE ESTUDIO OPTIMIZACION FORMULA III

COMPONENTE	NIVEL BAJO	NIVEL ALTO
PEG400	15%	20%
PEG1000	25%	45%
PEG1500	20%	60%
PEG6000	0%	20%

d) Diseño

Se propuso experimentar con un diseño D-optimal de primer grado (vértices extremos) con la matriz óptima de experiencias según el programa Design-Expert. El diseño es el siguiente:

TABLA XVI DISEÑO D-OPTIMAL PARA OPTIMIZACION FORMULA III

CORRIDA	PEG 400	PEG 1000	PEG 1500	PEG 6000
1	0.20	0.45	0.35	0.00
2	0.15	0.45	0.40	0.00
3	0.15	0.25	0.60	0.00
4	0.20	0.25	0.35	0.20
5	0.15	0.45	0.20	0.20

e) Variables de respuesta

TIEMPO DE DESINTEGRACION
RESISTENCIA A LA FRACTURA
TIEMPO DE LICUEFACCION
TEMPERATURA DE FUSION

f) Realización de las corridas experimentales.

Se analizaron las mezclas físicamente al inicio y se sometieron a ciclados T.A./37°C y T.A./45°C por 15 días.

g) Fórmula tentativa

De esta fase se obtuvo una fórmula tentativa en base a evaluaciones físicas.

h) Fabricación de lotes de prueba

Se fabricó un lote de prueba de 750 g (500 piezas) para esta fórmula analizándose física y químicamente y montándose en ciclados a un mes a las siguientes condiciones:

T.A./37°C

T.A./45°C

3.3.- FASE III OPTIMIZACION DEL PROCESO DE MANUFACTURA

Con la fórmula tentativa obtenida en la fase II se propuso optimizar el proceso de manufactura. Para esta fórmula se notó la influencia de factores ajenos a la composición de la fórmula en las respuestas obtenidas, mismos que son atribuibles al proceso.

a) Objetivo

Establecer las condiciones de operación que conduzcan a la obtención de respuestas óptimas.

b) Antecedentes

De acuerdo a los resultados obtenidos y a los inconvenientes que pueden presentarse al no controlar las variables del proceso de fabricación, se propuso investigar los niveles usados de los factores a través del desarrollo de la fórmula.

Al fabricar los lotes de los anteriores diseños se detectaron en la práctica variables del proceso que pueden repercutir sobre todo en la potencia química, uniformidad de contenido y apariencia física del producto obtenido.

c) Variables independientes

Los factores o variables propuestos en esta fase son los siguientes:

- A. Temperatura de adición de los principios activos a la masa fundida
- B. Tiempo de incorporación de los principios activos
- C. Tiempo de homogeneización (Molienda)
- D. Velocidad de agitación durante el llenado
- E. Temperatura de enfriamiento para solidificación de la masa

Los niveles para los factores establecidos según el desarrollo de la fórmula se presentan en la tabla XVII:

**TABLA XVII NIVELES DE LOS FACTORES
PARA LA OPTIMIZACION DEL PROCESO**

FACTOR	NIVEL BAJO	NIVEL ALTO
TEMP. ADICION P.A.	52.5 ± 2.5°C	67.5 ± 2.5°C
TIEM.INCORPORACION	40 min	120 min
TIEMPO MOLIENDA	5 min	10 min
VEL.AGITACION LLENADO	120 RPM	650 RPM
TEMP.ENFRIAMIENTO	10°C	25°C

d) Diseño

El diseño propuesto para esta fase fue un factorial fraccionado 2^{5-1} (fracción un medio para factorial completo de 5 factores).

Consta de 16 experimentos donde el generador I = ABCDE presenta un diseño de resolución 5, donde las interacciones bifactoriales y trifactoriales están confundidas al igual que las interacciones de cuarto orden con los efectos principales.

Por ejemplo B = ACDE, A = BCDE (el efecto principal de la temperatura de adición está confundido con la interacción tetrafactorial entre tiempo de incorporación, tiempo de molienda, velocidad de agitación y temperatura de llenado). De la misma manera AB = CDE (confusión entre interacción bifactorial y trifactorial).

Lo importante es que el diseño nos permite evaluar sin confusión los efectos principales y las interacciones de dos factores ya que se consideran más importantes según el principio de dispersibilidad de los efectos.

El diseño se muestra en la tabla XVIII y su representación gráfica en la figura No. 15.

TABLA XVIII DISEÑO 2^{5-1} PARA OPTIMIZACION DE PROCESO FORMULA III

CORRIDA	TEMPERATURA ADICION P.A (°C)	TIEMPO DE INCORPORACION (min)	TIEMPO DE MOLIENDA (min)	VELOCIDAD. AGITACION LLENADO (RPM)	TEMPERATURA DE ENFRIAMIENTO (°C)
1	67.5	40	10	650	10
2	67.5	120	5	120	25
3	52.5	120	10	650	10
4	67.5	120	10	650	25
5	52.5	120	10	120	25
6	52.5	40	10	650	25
7	67.5	40	5	120	10
8	52.5	40	5	120	25
9	67.5	40	5	650	25
10	67.5	120	10	120	10
11	67.5	40	10	120	25
12	67.5	120	5	650	10
13	52.5	40	10	120	10
14	52.5	40	5	650	10
15	52.5	120	5	650	25
16	52.5	120	5	120	10

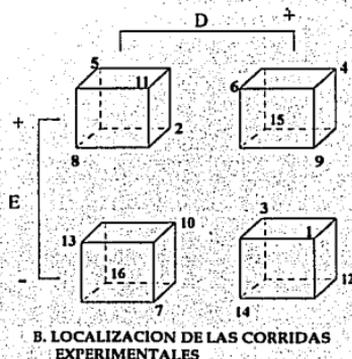
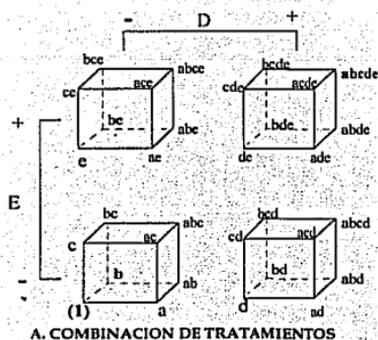


FIGURA No. 15 DISEÑO 2^{5-1} PARA OPTIMIZACION DE PROCESO FORMULA III

e) Variables de respuesta

CONTENIDO DE ACETONIDO DE FLUCINOLONA
CONTENIDO DE METRONIDAZOL
POTENCIA DE NISTATINA
METRO-DELTA*
TIEMPO DE DESINTEGRACION
TIEMPO DE LICUEFACCION
TEMPERATURA DE FUSION

*NOTA: Durante el llenado de los contenedores se separaron la fracción inicial y final del proceso. Se analizó contenido de metronidazol por separado a ambas fracciones. La diferencia entre la potencia obtenida para la fracción inicial del proceso de llenado y la fracción final se identificó como la variable de respuesta **METRO-DELTA**.

El objetivo fue evaluar el efecto de los factores sobre la uniformidad de contenido del Metronidazol en el lote.

Debido a la alta proporción en la fórmula y a su tamaño de partícula, este activo presenta una notable tendencia a sedimentarse en la masa fundida. Razón por la cual algunas fracciones del lote pueden presentar bajo o alto contenido de metronidazol según el grado de demezclado.

Durante el desarrollo de la fórmula se observó que el tiempo de molienda de la masa fundida así como la velocidad de agitación durante el llenado influyen importantemente en la sedimentación de este activo.

f) Realización de las corridas experimentales.

Se analizaron las mezclas física y químicamente al inicio y se sometieron a ciclos T.A./37°C y T.A./45°C por 1 mes.

g) Análisis de diseño

Con los resultados obtenidos se establecieron las condiciones óptimas del proceso. Para las evaluaciones químicas se establecieron óptimos en base a normas de calidad internas específicamente para el contenido de principios activos por óvulo.

Para acetónido de flucinolona y metronidazol las normas internas especifican que el producto deberá contener entre el 95 y 105% de la cantidad de principio activo establecida en el marbete. Para nistatina del 90 al 120% de la cantidad etiquetada.

Para la variable Metro-Delta se eligió un rango de 0 a 5% ya que es necesario garantizar la uniformidad de contenido y la potencia del metronidazol dentro de límites óptimos ($100 \pm 5\%$). Este sería el rango óptimo para evitar subpotenciaciones o sobrepotenciaciones causadas por las condiciones de operación.

3.4.- DISOLUCION

Se realizaron pruebas de disolución a la fórmula tentativa fabricada con las condiciones óptimas empleando los métodos para acetónido de fluocinolona, metronidazol y nistatina descritos en el punto 2.3.2 de la metodología analítica.

CAPITULO III RESULTADOS

1.- FORMULA I (NITROFURAZONA)

1.1.- FASE I DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

En la tabla XIX se muestran los resultados de las evaluaciones físicas para el diseño de escrutinio de la fórmula I :

TABLA XIX RESULTADOS DEL DISEÑO TAMIZ FORMULA I

PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000	TEMP. FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)	FUERZA DE FRACTURA (Newtons)	ASPECTO (0-4)
0	0	0.5	0.5	58.0	29.50	16.0	25.1	1.5
0	0	0	1	58.4	29.00	19.0	30.2	0.0
0.5	0	0.5	0	54.0	20.50	11.0	9.9	4.0
0	0.5	0	0.5	54.4	21.50	14.0	24.8	1.5
0	1	0	0	45.0	13.25	9.0	10.1	4.0
0.5	0.5	0	0	43.2	8.50	9.0	9.7	4.0
0.5	0	0	0.5	56.4	25.00	13.0	25.3	1.0
1	0	0	0	35.0	4.00	4.0	0	4.0
0	0.5	0.5	0	53.2	20.00	12.0	20.2	4.0
0	0	1	0	56.4	23.00	13.0	19.8	3.0

Observaciones

- El producto necesitó resistir al menos una fuerza de 12 N para poder ser manipulado. Con resistencias a la fractura inferiores a 12 N el producto no puede ser sacado de su contenedor en forma íntegra.
- Las mezclas que contenían PEG6000 ya sea puro o en combinación presentaron coloraciones que van desde café oscuro (corrida 2) a ámbar (corridas 1, 4 y 7).
- En general ninguna mezcla soportó el ciclado T.A./60°C. Las mezclas con puntos de fusión inferiores o iguales a 45°C no soportaron el ciclado T.A./45°C. En estos casos se encontró que a tales temperaturas se presenta obscurecimiento, adherencia y deformación del óvulo en el contenedor.

1.2.- FASE II. OPTIMIZACION DE LA FORMULA

Los resultados para esta fase se muestran a continuación en la tabla XX:

TABLA XX RESULTADOS DEL DISEÑO D-OPTIMAL PARA FORMULA I

AGUA	PEG 400	PEG 1500	PEG 3350	TEMP. DE FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)	FUERZA DE FRACTURA (Newtons)
0.050	0.100	0.450	0.400	55.0	21.00	11.5	15.2
0.075	0.050	0.275	0.600	56.5	23.50	12.5	15.1
0.100	0.150	0.350	0.400	53.0	19.00	10.5	10.0
0.050	0.050	0.300	0.600	56.0	23.75	13.0	9.9
0.050	0.150	0.400	0.400	53.0	20.00	11.0	10.3
0.050	0.100	0.250	0.600	56.0	21.75	12.0	14.8
0.050	0.150	0.250	0.550	54.0	20.50	11.5	10.1
0.070	0.100	0.340	0.490	55.0	20.00	11.0	12.5
0.100	0.100	0.250	0.550	55.0	21.00	11.5	7.5
0.100	0.150	0.250	0.500	53.0	18.75	10.5	5.2
0.050	0.050	0.450	0.450	53.5	22.00	12.0	15.1
0.100	0.050	0.450	0.400	54.0	21.00	11.5	10.0
0.100	0.050	0.250	0.600	55.0	22.00	11.5	7.6
0.100	0.050	0.350	0.500	56.0	21.00	11.5	10.1
0.075	0.075	0.450	0.400	54.5	19.50	11.0	12.4
0.075	0.150	0.250	0.525	55.0	22.00	12.0	9.9

Observaciones

- Se observó experimentalmente que las mezclas que contenían agua al nivel alto (10%) presentaron una mayor tendencia a incorporar aire en la masa fundida.

1.3.- FORMULA TENTATIVA

Se obtuvo la siguiente fórmula tentativa:

Constantes

Nitrofurazona: 6 mg/óvulo

Crospovidona: 67.5 mg/óvulo (5% del peso total del óvulo)

BASE c.b.p..... 1 óvulo (Peso del óvulo 1.35 g)

Composición de la base

AGUA: 5%

PEG 400: 10%

PEG 1500: 45%

PEG 3350: 40%

1.4.- ANALISIS QUIMICO Y DISOLUCION

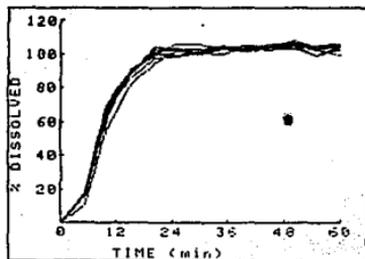
En la tabla XXI se muestran los resultados para el análisis químico de la fórmula tentativa, análisis inicial y después de ciclar. En cuanto a la disolución, la tabla XXII muestra los resultados para la prueba realizada; en la figura No 16 se presenta el perfil de disolución para los 6 vasos y el perfil de disolución promedio:

TABLA XXI RESULTADOS ANALISIS QUIMICO PARAFORMULA I

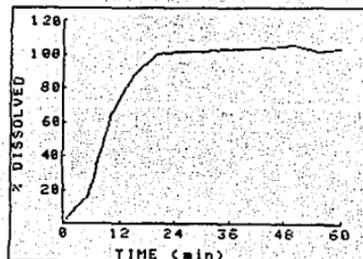
MUESTRA	CONC. (mg/mL)	%/OVULO LOTE
INICIAL	0.06143	102.38
T.A./45°C 15 dias	0.06109	101.82
T.A./37°C 1 mes	0.06120	102.00
T.A./45°C 1 mes	0.06007	101.21

TABLA XXII RESULTADOS DISOLUCION FORMULA I

TIEMPO (min)	% DISUELTO (PROM)	C.V. (%)
5	16	18.7
10	64.9	7.1
15	87.5	3.6
20	99.7	3.3
30	101.8	2.0
40	102.8	1.2
50	105.8	1.6
60	103.3	2.3



VESSELS 1-6 FOR COMPONENT: NITROFURAL



AVERAGE OF 1-6 FOR COMPONENT: NITROFURAL

FIGURA No. 16 PERFIL DE DISOLUCION FORMULA I

2.- FORMULA II (NISTATINA)

2.1.- FASE I DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

En la tabla XXIII se muestran los resultados para el diseño tamiz de la fórmula II :

TABLA XXIII RESULTADOS DISEÑO TAMIZ PARA FORMULA II

PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000	TEMP. FUSION (°C)	TIEMPO LICUEFACCION (min)	TIEMPO DESINTEGRACION (min)	FUERZA DE FRACTURA (Newtons)	POTENCIA DE NISTATINA (%)
0.5	0.5	0	0	43	10.0	9	8.9	104.98
0.5	0	0	0.5	54	24.5	13	24.8	96.14
1	0	0	0	34	2.5	4	0	77.53
0.5	0	0.5	0	51	18.5	11	3.6	78.87
0	0	1	0	54	23.5	13	6.4	98.02
0	0.5	0	0.5	49	26.7	15	65.9	104.96
0	0	0.5	0.5	56	27.0	15	34.2	98.89
0	0.5	0.5	0	54	22.5	13	32.1	104.87
0	0	0	1	57	28.5	16	27.6	97.43
0	1	0	0	45	12.5	9	7.3	98.23

Observaciones

- La mezcla con temperatura de fusión de 34°C (corrida 3) no soportó el ciclado T.A./37°C. Las mezclas con puntos de fusión inferiores o iguales a 45°C no soportaron el ciclado T.A./45°C. Estas mezclas presentaron al término del ciclado separación de fases (sedimentación) y deformación del óvulo.
- El producto necesitó resistir al menos una fuerza de 15 N para poder ser manipulado.

2.2.- FORMULAS TENTATIVAS

De acuerdo al análisis del diseño fase I se obtuvieron las siguientes fórmulas tentativas:

Contantes

Nistatina:	0.120 MU (21.82 mg/óvulo)
Agua:	70 mg/óvulo
PEG 400:	140 mg/óvulo
BASE cbp.....	1 óvulo (1.4 g)

Composición de la base

Fórmula A	Fórmula B
PEG 1000 15%	PEG 1000 15%
PEG 1500 75%	PEG 1500 75%
PEG 3350 10%	PEG 6000 10%

2.3.- LOTES DE PRUEBA

La tabla XXIV muestra los resultados para las evaluaciones físicas realizadas a los lotes de prueba con las formulaciones tentativas.

TABLA XXIV RESULTADOS PRUEBAS FISICAS PARA OPTIMIZACION NISTATINA, OVULOS

FORMULA	TEMP. DE FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)	FUERZA DE FRACTURA (Newtons)
A	50.2	14	9.5	15
B	52.5	19	11.0	24

2.4.- ANALISIS QUIMICO Y DISOLUCION

En la tabla XXV se muestran los resultados para el análisis de potencia de nistatina realizados a la fórmula tentativa A, análisis inicial y después de ciclar. En la tabla XXVI y en la figura No. 17 se muestran los resultados para la prueba de disolución realizada con dicha fórmula :

**TABLA XXV RESULTADOS POTENCIA PARA
FORMULA A NISTATINA, OVULOS**

CONDICION	POTENCIA (%)
INICIAL	104.0
T.A./37°C	101.2
T.A./45°C	98.6

TABLA XXVI RESULTADOS DISOLUCION FORMULA II

TIEMPO (min)	% DISUELTO (PROM)	C.V. (%)
10	14.9	2.1
20	29.7	4.3
30	41.8	1.5
40	49.2	1.2
50	55.8	0.6
60	63.3	0.3

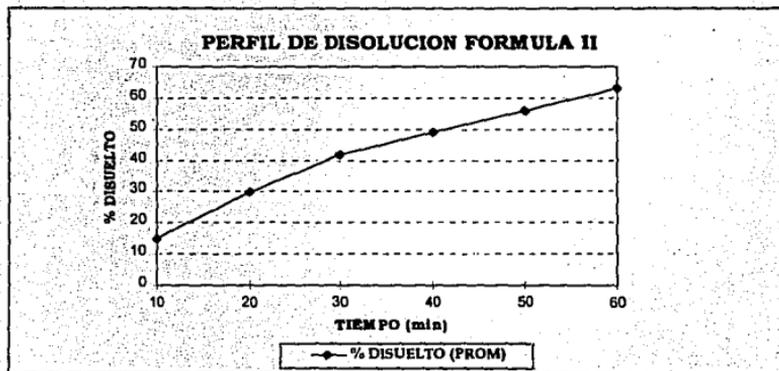


FIGURA No. 17 PERFIL DE DISOLUCION FORMULA II

3.- FORMULA III

ACETONIDO DE FLUOCINOLONA, METRONIDAZOL Y NISTATINA

3.1.- FASE I DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

Los resultados para el diseño tamiz de la fórmula III se presentan a continuación (tabla XXVII):

TABLA XXVII RESULTADOS DISEÑO TAMIZ PARA FORMULA III

PEG 1000	PEG 1500	PEG 3350	PEG 6000	TEMP. FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)	FUERZA FRACTURA (Newtons)
0	0.5	0.5	0	53.0	54.5	13.0	35.4
0	0	1	0	55.0	62.0	14.0	5.8
1	0	0	0	35.0	3.0	5.0	0.0
0.5	0.5	0	0	43.0	24.0	10.0	2.0
0	0	0	1	58.0	69.0	18.0	68.7
0	0.5	0	0.5	55.0	66.0	15.0	64.1
0.5	0	0.5	0	53.0	51.0	11.0	1.5
0	0	0.5	0.5	57.0	60.0	16.0	16.8
0.5	0	0	0.5	57.0	59.0	14.0	38.9
0	1	0	0	45.0	39.0	10.0	2.4

Observaciones

- La corrida 3 (PEG1000 puro) no soportó el ciclado T.A./37°C. Las mezclas con puntos de fusión inferiores o iguales a 45°C no soportaron el ciclado T.A./45°C. Estas mezclas presentaron al término del ciclado separación de fases (sedimentación) y deformación del óvulo.
- Para poder ser manipulado sin problemas el producto necesitó resistir al menos una fuerza de 10 Newtons.

FASE 3.2.- FASE II OPTIMIZACION DE LA FORMULA

Los resultados de las pruebas físicas para el diseño de optimización de la fórmula III se presentan en la tabla XXVIII :

TABLA XXVIII RESULTADOS DEL DISEÑO D-OPTIMAL PARA OPTIMIZACION FORMULA III

PEG 400	PEG 1000	PEG 1500	PEG 6000	TEMP. FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)	FUERZA FRACTURA (NEWTONS)
0.20	0.45	0.35	0.00	43.2	7	7.1	7.50
0.15	0.45	0.40	0.00	44.3	11	8.2	10.10
0.15	0.25	0.60	0.00	45.4	26	8.3	9.90
0.20	0.25	0.35	0.20	52.8	45	10.6	10.05
0.15	0.45	0.20	0.20	53.6	52	10.7	22.50

Observaciones

- Todas las mezclas resistieron el ciclado T.A./37°C.
Las corridas 1 y 2 presentaron separación de fases (sedimentación), adherencia y deformación del óvulo en la primera semana a T.A./45°C. Lo mismo se presentó para la corrida 3 a partir del décimo día hasta el término de las dos semanas. Las corridas 4 y 5 soportaron sin cambios físicos los dos ciclados.

3.3.- FORMULA TENTATIVA

De esta fase se obtuvo la siguiente fórmula tentativa en base a evaluaciones físicas:

Constantes

Acetónido de	
fluocinolona:	0.50 mg
Metronidazol:	500.00 mg
Nistatina:	20.91 mg (0.115 MU)
Agua:	75.00 mg
BASE cbp.....	1500.00 mg

Composición de la base

PEG 400	20%
PEG 1000	45%
PEG 1500	25%
PEG 6000	10%

3.4.- LOTE DE PRUEBA PARA FORMULA TENTATIVA

A continuación se muestran los resultados para el análisis físico y químico de la fórmula tentativa (tablas XXIX y XXX respectivamente).

TABLA XXIX RESULTADOS ANALISIS FISICO
PARA FORMULA TENTATIVA III

CONDICION	TEMP. DE FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)	FUERZA DE FRACTURA (Newtons)
INICIAL	48.1	25	10.0	17
T.A./37°C	48.5	28	11.0	15
T.A./45°C	48.5	29	11.0	12

TABLA XXX RESULTADOS ANALISIS QUIMICO
PARA FORMULA TENTATIVA III

CONDICION	CONTENIDO DE ACETONIDO DE FLUOCINOLONA (%)	CONTENIDO DE METRONIDAZOL (%)	POTENCIA DE NISTATINA (%)
INICIAL	96.5	108.5	95.5
T.A./37°C	95.3	106.3	93.0
T.A./45°C	91.2	109.6	90.5

3.5.- FASE III OPTIMIZACION DEL PROCESO DE MANUFACTURA

En las siguientes dos tablas se presentan los resultados del diseño 2⁵⁻¹ para optimización del proceso en la fórmula III. La tabla XXXI muestra los resultados de las evaluaciones químicas, mientras que la tabla XXXII presenta las evaluaciones físicas :

5-1
TABLA XXXI RESULTADOS DISEÑO 2 PARA OPTIMIZACION DE PROCESO FORMULA III (ANALISIS QUIMICO)

CORRIDA	POTENCIA DE ACETONIDO FLUOCINOLONA (%)	POTENCIA DE METRONIDAZOL (%)	POTENCIA DE NISTATINA (%)	METRO-DELTA (%)
1	102.6	105.4	97.5	9.3
2	104.4	104.2	101.0	5.6
3	102.3	105.1	117.0	2.5
4	104.3	103.9	117.5	4.0
5	104.8	104.6	99.5	1.1
6	103.9	104.6	99.0	5.6
7	106.7	104.2	100.0	2.9
8	105.0	103.6	102.0	7.4
9	106.1	105.3	103.5	9.5
10	106.3	105.0	100.5	14.5
11	105.3	104.0	101.5	12.1
12	106.6	103.4	100.0	5.5
13	99.5	103.7	101.0	10.2
14	106.5	104.5	101.0	9.5
15	105.7	102.4	100.0	6.9
16	103.4	104.8	99.5	7.2

5-1
TABLA XXXII RESULTADOS DISEÑO 2 PARA OPTIMIZACION DE PROCESO FORMULA III (ANALISIS FISICO)

CORRIDA	TEMPERATURA DE FUSION (°C)	TIEMPO DE LICUEFACCION (min)	TIEMPO DE DESINTEGRACION (min)
1	49.8	32.0	11.00
2	50.3	29.0	11.50
3	49.3	25.0	10.00
4	50.0	24.0	10.75
5	49.1	22.0	9.75
6	48.9	18.0	11.25
7	49.6	19.0	10.50
8	49.2	28.0	10.25
9	49.6	22.0	10.50
10	49.6	26.0	10.50
11	48.6	24.0	10.25
12	49.9	19.0	11.00
13	47.9	19.0	10.25
14	48.5	25.5	9.75
15	49.0	27.0	10.75
16	49.2	28.5	11.00

3.6.- CONDICIONES OPTIMAS DEL PROCESO

De acuerdo a las superficies de respuesta obtenidas para el diseño se obtuvo una zona experimental óptima trabajándose a las siguientes condiciones:

TABLA XXXIII CONDICIONES OPTIMAS PARA EL PROCESO DE MANUFACTURA FORMULA III

TEMPERATURA DE ADICION DE ACTIVOS	55 a 60°C
TIEMPO DE INCORPORACION DE ACTIVOS	120 minutos
TIEMPO DE MOLIENDA	10 minutos
VELOCIDAD DE AGITACION EN EL LLENADO	650 RPM
TEMPERATURA DE ENFRIAMIENTO	10°C

3.7.- DISOLUCION

a) Acetónido de fluocinolona.

Los resultados obtenidos en la prueba de disolución para acetónido de fluocinolona en la fórmula III se presentan en la tabla XXXIV y en la figura No 18.

b) Nistatina

El sistema cromatográfico para acetónido de fluocinolona permitió también la cuantificación de nistatina. Al trabajar a estas concentraciones se detectó un pico cromatográfico para nistatina, mismo que fue comparado contra estándares al 100%. Considerando como 100 % la máxima concentración alcanzada si se disolviese totalmente la nistatina (115 000 UI = 20.91 mg) en los 900 mL de medio $20.91 \text{ mg}/900 \text{ mL} = 23.23 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL} = 100 \%$. Los resultados se muestran en la figura No. 19 y en la tabla XXXV.

c) Metronidazol

Los resultados obtenidos en la prueba de disolución para metronidazol en la fórmula III se presentan en la tabla XXXVI y en la figura No 20:

TABLA XXXIV RESULTADOS DISOLUCION ACETONIDO DE FLUOCINOLONA EN FORMULA III

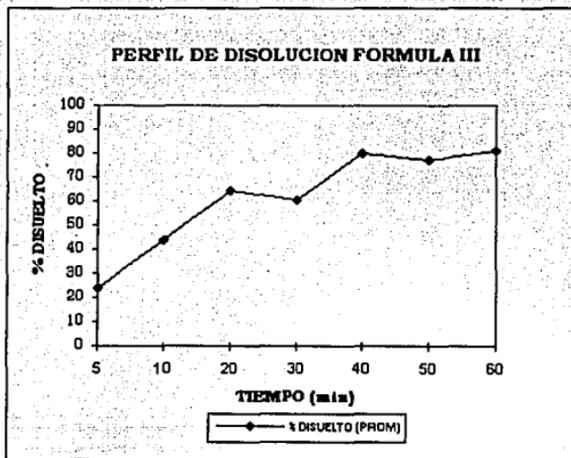
TIEMPO (min)	% DISUELTO (PROM)
5	23.5
10	43.7
20	64.3
30	60.4
40	80.1
50	76.9
60	81.2

**TABLA XXXV RESULTADOS DISOLUCION
NISTATINA EN FORMULA III**

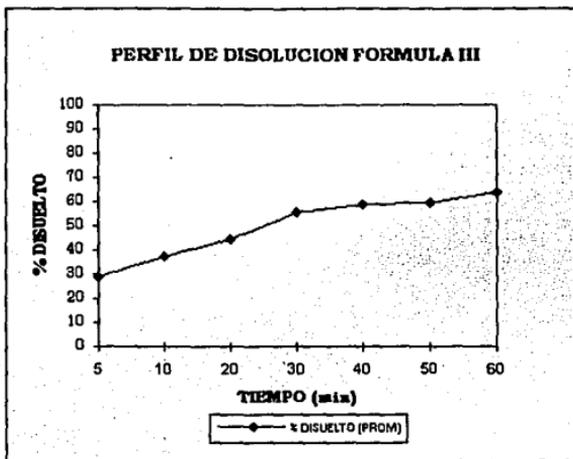
TIEMPO (min)	% DISUELTO (PROM)
5	29.0
10	36.9
20	44.3
30	55.2
40	58.6
50	59.5
60	64.0

**TABLA XXXVI RESULTADOS DISOLUCION
METRONIDAZOL EN FORMULA III**

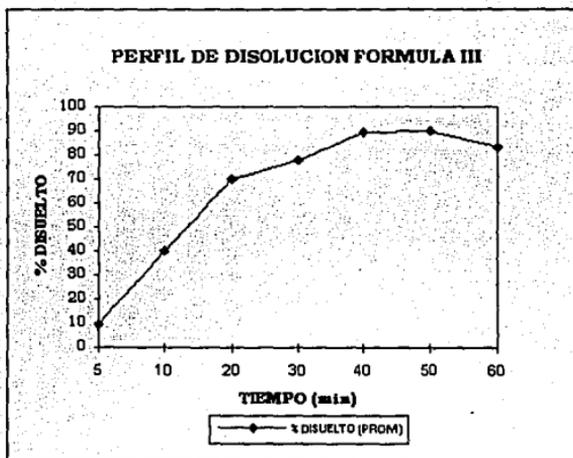
TIEMPO (min)	% DISUELTO (PROM)
5	9.1
10	39.7
20	70.1
30	77.6
40	89.1
50	89.9
60	83.3



**FIGURA No. 18 PERFIL DE DISOLUCION
ACETONIDO DE FLUOCINOLONA EN FORMULA III**



**FIGURA No. 19 PERFIL DE DISOLUCION
NISTATINA EN FORMULA III**



**FIGURA No. 20 PERFIL DE DISOLUCION
METRONIDAZOL EN FORMULA III**

CAPITULO IV ANALISIS DE RESULTADOS

1.- FORMULA I (NITROFUZZAZONA)

1.1.- DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

a) Observaciones

De acuerdo a la tabla XIX las mezclas que presentaron temperaturas de fusión menores o iguales a 45°C y por lo tanto no soportaron el ciclado T.A./45°C son las siguientes: PEG1000 (corrida 8), PEG 1500 (corrida 5) y la mezcla binaria PEG1000/PEG1500 (corrida 6).

La corrida 8 de este diseño contiene PEG1000 como componente variable (85%) más agua y PEG400 como componentes constantes (5 y 10% respectivamente). El rango de fusión reportado (5) para el PEG1000 puro (ver tabla I) es de 37°C - 40°C. El hecho de que la corrida 8 presentara una temperatura de fusión de 35°C puede atribuirse al mezclado de los polímeros con cadenas de diferente peso molecular (400 con 1000). Lo mismo se presenta para los demás polietilenglicoles.

Dependiendo de la forma, constitución y arreglo de las cadenas involucradas en la mezcla, así como la proporción en que se encuentren, será la temperatura de fusión de la masa ovular.

En cuanto al aspecto físico podemos decir que la presencia de incompatibilidad química (obscurecimiento del óvulo) se atribuye a la degradación de la nitrofurazona en los polietilenglicoles, particularmente en PEG6000. Es probable que ciertos grupos funcionales de la nitrofurazona (grupo amida, grupo nitro) reaccionen químicamente con el polietilenglicol (grupos oxietileno, alcohol) ó con las impurezas que contienen (peróxidos, halógenos). Esta degradación se presentó también con las mezclas que funden a las condiciones de ciclado ya que en estado líquido esta reacción se ve favorecida.

Las composiciones que contienen PEG1000 puro o en combinación con PEG1500 y PEG3350 (corridas 8, 6 y 3 respectivamente), así como la corrida 5 (PEG1500 puro) presentan fuerzas de fractura inferiores a 12 N por lo que no pueden ser manipuladas. Las mezclas que contienen PEG6000 (corridas 1, 2, 4, y 7) presentaron resistencias a la fractura superiores a los 24 N (resistiendo pesos mayores a 2.5 Kg). Este comportamiento puede explicarse por la estructura molecular de los polietilenglicoles. Conforme el peso molecular de la mezcla de polímeros aumenta, la forma sinuosa (más compacta) de las

cadena predomina. En este caso las moléculas del polímero sufren un acomodamiento más estrecho llenando los espacios libres y por tanto la estructura macromolecular de la mezcla es más rígida.

El tiempo de desintegración menor se encontró con PEG1000 puro (corrida 8), mientras que el PEG6000 presentó la desintegración más lenta (corrida 2). Esto se debe a la diferente solubilidad que presentan los polietilenglicoles en agua según su peso molecular, ya que la desintegración del óvulo está en función de la disolución de la base en el medio acuoso.

Los polietilenglicoles de peso molecular bajo (400, 1000 ó 1500) presentan una solubilidad en agua mayor que los polietilenglicoles de mayor peso molecular (3350, 6000). Esto se debe fundamentalmente a la relativa facilidad de los primeros para formar puentes de hidrógeno en solución acuosa ya que por su conformación en cadenas de "zig-zag" estos polímeros presentan una mayor disposición al medio de sus grupos hidróxilo y oxetileno en la molécula.

La corrida 9 (mezcla PEG1500/PEG3350) presenta los menores tiempo de licuefacción y desintegración para una mezcla con resistencia a la fractura >15 N.

b) Análisis estadístico

A continuación se muestra un ejemplo de los resultados obtenidos para el tratamiento estadístico de la variable de respuesta tiempo de desintegración:

MODELO LINEAL

Para este modelo las respuestas estarían descritas de la siguiente manera:

$$\text{Tiempo de desintegración} = \beta_1 \cdot \text{PEG1000} + \beta_2 \cdot \text{PEG1500} + \beta_3 \cdot \text{PEG3350} + \beta_4 \cdot \text{PEG6000}$$

TABLA XXXVII ANOVA PARA EL MODELO LINEAL
(TIEMPO DESINTEGRACION)

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G.L	MEDIA CUADRATICA	F _{cal}	PROB > F
MODELO	146.00	3	48.6667	36.50	0.0003
ERROR	8.00	6	1.3333		
TOTAL	154.00	9			

$$\sqrt{\text{MSE}} = 1.1547$$

$$R^2 = 0.9481$$

$$\text{MEDIA GENERAL} = 12.0$$

$$\text{C.V.} = 9.62\%$$

**TABLA XXXVIII PARAMETROS DEL MODELO LINEAL
PARA TIEMPO DE DESINTEGRACION**

VARIABLE	COEFICIENTE	G.L	ERROR ESTANDAR	t para Ho: $\beta_1 = 0$	PROB > t
β_1	5.67	1	0.89	6.36	0.0007
β_2	9.67	1	0.89	10.81	0.0001
β_3	13.67	1	0.89	15.28	0.0001
β_4	19.00	1	0.89	21.24	0.0001

Error estándar de la media = 0.36515

**TABLA XXXIX ANALISIS DE RESIDUOS MODELO
LINEAL PARA TIEMPO DE DESINTEGRACION**

CORRIDA	OBSERVADO	ESTIMADO	RESIDUAL	t VALOR
1	16	16.3	-0.3	-0.31
2	19	19.0	0.0	0.00
3	11	9.6	1.3	1.47
4	14	14.3	-0.3	-0.31
5	9	9.6	-0.7	-0.89
6	9	7.7	1.3	1.47
7	13	12.3	0.7	0.64
8	4	5.7	-1.7	-5.73
9	12	11.7	0.3	0.31
10	13	13.7	-0.7	-0.89

MODELO CUADRÁTICO

Para este modelo las respuestas estarían descritas de la siguiente manera:

$$T_{\text{desint}} = \beta_1 \cdot \text{PEG1000} + \beta_2 \cdot \text{PEG1500} + \beta_3 \cdot \text{PEG3350} + \beta_4 \cdot \text{PEG6000} + \beta_{12} \cdot \text{PEG1000} \cdot \text{PEG1500} + \beta_{13} \cdot \text{PEG1000} \cdot \text{PEG3350} + \beta_{14} \cdot \text{PEG1000} \cdot \text{PEG6000} + \beta_{23} \cdot \text{PEG1500} \cdot \text{PEG3350} + \beta_{24} \cdot \text{PEG1500} \cdot \text{PEG6000} + \beta_{34} \cdot \text{PEG3350} \cdot \text{PEG6000}$$

**TABLA XL ANOVA PARA EL MODELO
CUADRÁTICO TIEMPO DE DESINTEGRACION**

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G.L	MEDIA CUADRATICA	Fcal	PROB > F
MODELO	154.0	9	17.11		
ERROR	0	0			
TOTAL	154.00	9			

$$R^2 = 1.0$$

MEDIA GENERAL = 12.0

La tabla XXXVII nos muestra el análisis de varianza realizado para la variable tiempo de desintegración suponiendo que los datos se ajustaran a un modelo lineal.

El análisis descompone la variabilidad de los datos para probar la hipótesis nula de no significancia de los coeficientes lineales sobre la media general. Rechazándose Ho, la

variabilidad de los datos podrían explicarse mediante un modelo inicial de primer grado. En este caso la respuesta estaría predicha en función de la presencia o ausencia de los componentes individuales en la mezcla, descartándose efectos sinérgicos o antagonicos entre ellas.

El resultado del anova para este modelo muestra la significancia del modelo al 90 y 95% de confianza, ya que la F_o (calculada) es mayor que la F tabulada (3.29 para $\alpha = 0.1$ y 4.76 para $\alpha = 0.05$).

El valor de "prob>F" establece el área bajo la curva o probabilidad observada para F_o , si la hipótesis nula resulta verdadera (existiendo diferencia entre los tratamientos o coeficientes del modelo). Valores de "prob>F" menores al nivel asignado para α rechazan H_o . En este caso "prob>F" = 0.03%, siendo un valor menor a la probabilidad de presentarse un error tipo I; por lo que podemos confiar en nuestro análisis.

En la tabla XXXVIII se muestran los coeficientes obtenidos mediante los mínimos cuadrados de la regresión múltiple. La prueba de hipótesis $H_o: \beta_i = 0$ nos sirve para establecer la probabilidad de que dicho coeficiente pueda ser considerado nulo o con un efecto insignificante sobre el modelo. En este caso observamos que los coeficientes distan desde 6 a 21 desviaciones estándar del valor "cero" por lo que se concluye su importancia.

La tabla XXXIX estudia los residuos para el modelo lineal donde el parámetro t no indica la presencia de datos aberrantes ya que ninguno se aleja más de tres desviaciones estándares de la media.

El ANOVA para el modelo cuadrático (tabla XL) no presenta estimación del error ya que para analizar un modelo cuadrático se requiere de puntos adicionales en el diseño.

Al realizar un diseño tamiz el objetivo principal es analizar los efectos lineales más que interacciones de alto orden por lo cual no se eligió un diseño aumentado. En un modelo lineal las observaciones de mezclas binarias sirven para calcular el error más que para modelizar el sistema a un orden mayor.

Por lo tanto en los siguientes resultados sólo se expondrá el modelo lineal.

En la tabla XLI se resumen los resultados del ANOVA para el modelo lineal de las respuestas obtenidas en el diseño tamiz. La tabla XLII muestra los resultados de la regresión múltiple (coeficientes del modelo propuesto).

**TABLA XLI RESUMEN DE RESULTADOS DEL ANOVA
PARA EL MODELO LINEAL DISEÑO TAMIZ FORMULA I**

VARIABLE DE RESPUESTA	Fcal	PROB>F	R ²	C.V.
TIEMPO DESINTEGRACION	36.5	0.0003	0.9481	9.62
TIEMPO DE LICUEFACCION	14.86	0.0035	0.8814	18.29
TEMPERATURA DE FUSION	8.858	0.0127	0.8158	7.91
RESISTENCIA A FRACTURA	14.25	0.0039	0.8769	23.33

**TABLA XLII COEFICIENTES DEL MODELO PARA
EL DISEÑO TAMIZ FORMULA I**

VARIABLE DE RESPUESTA	β_1	β_2	β_3	β_4
TIEMPO DE DESINTEGRACION	5.67	9.67	13.67	19.00
TIEMPO DE LICUEFACCION	7.72	12.55	25.72	31.72
TEMPERATURA DE FUSION	40.27	46.00	58.40	60.93
RESISTENCIA A FRACTURA	3.33	13.33	20.00	33.33

En todas las respuestas se detecta significancia de los puntos correspondientes al modelo rechazándose la hipótesis nula de $\tau_i = 0$. Es decir el modelo con sus correspondientes coeficientes tiene significancia y efecto sobre la media poblacional. Se concluye en general la adecuación lineal para todas las respuestas.

C) Interpretación y comentarios

Los resultados establecen que las respuestas o evaluaciones físicas realizadas a los óvulos estarán en función de la presencia o ausencia específica de cada polietilenglicol en la mezcla de la base. Para fines de escrutinio nos interesa entonces encontrar cuales polietilenglicoles pueden ser descartados en base a sus características físicas.

Como podemos ver en la tabla XLII el coeficiente β_1 para todas las respuestas presenta los valores más bajos. Esto es crítico para la variable de respuesta "resistencia a la fractura" ($\beta_1 = 3.33$) lo que indica que la presencia de PEG1000 puede afectar significativamente la estructura integral del óvulo al aumentar la proporción de cadenas de polímero menos compactas en la mezcla. Además el valor del coeficiente para la temperatura de fusión ($\beta_3 = 40.27$) nos indica que a mayor cantidad de PEG1000, es decir mientras más nos acercamos a la unidad para la proporción de X_1 en la mezcla, la respuesta predicha por el modelo sería inferior a 45°C y el óvulo no resistiría las condiciones de almacenamiento extremas. Teniendo la mayor resistencia ($\beta_4 = 33.33$) el PEG6000 presenta también los coeficientes más altos para la desintegración y licuefacción (19.00 y 31.72) por lo que aunado a la tendencia a favorecer la incompatibilidad, este polietilenglicol debe ser descartado de la formulación.

d) Superficie de respuesta

A continuación en la figura No. 21 se presenta la superficie de respuesta elaborada con el modelo lineal para encontrar la zona óptima.

Los niveles óptimos de las variables de respuesta se fueron ajustando para encontrar el balance entre menor desintegración-licuefacción con mezclas que presentaran fuerzas de fractura superiores a 15 N.

Se establecieron los siguientes niveles óptimos:

Tiempo de desintegración (R1): <12 min.

Tiempo de licuefacción (R2): < 20 min

Temperatura de fusión (R3): >45°C

Fuerza de fractura (R4): >15 N

DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

A - PEG1000

B - PEG1450

C - PEG3350

Constants:

PEG6000 = 0.000

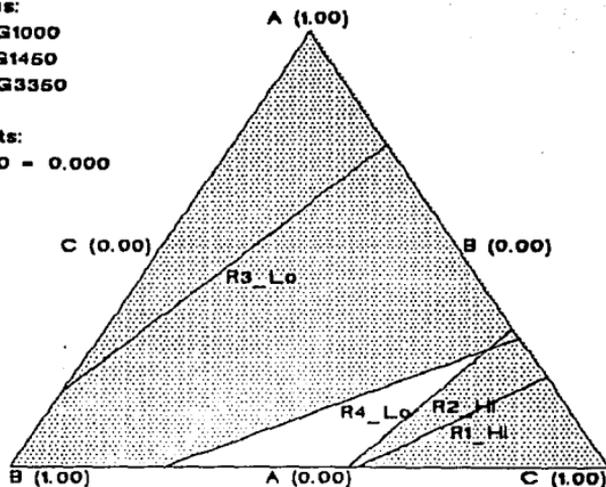


FIGURA No. 21 SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA LOCALIZACION DE OPTIMOS DISEÑO TAMIZ FORMULA I

Como podemos ver en la base del simplex de la superficie de respuesta de la figura No. 21 se eliminan el PEG 6000 y el componente PEG 1000 ya que la zona óptima incluye el nivel de 0 para dichas variables.

La zona óptima abarca composiciones que presentan desde un nivel de PEG1500 de 10% hasta aproximadamente el 70%. Para el PEG3350 se encontraron composiciones óptimas desde 40% al 60%.

Al establecer una segunda fase involucrando composiciones restringidas con dos variables líquidas extras (Agua y PEG400) se optó por respetar los niveles óptimos del PEG3350 y disminuir el nivel máximo del PEG1500 de tal manera que no se arriesgara la consistencia de la mezcla y poder optimizar sobre todo la licuefacción y desintegración.

1.2.- FASE II OPTIMIZACION DE FORMULA I

a) Observaciones

Como se muestra en la tabla XX todas las mezclas presentaron temperaturas de fusión superiores a 50°C.

Las mezclas con PEG400 al nivel alto (corridas 3, 5, 7, 10 y 16) presentan desintegración ≤ 12 min pero su resistencia a la fractura es menor a 12 N.

Con PEG1500 al nivel alto, agua y PEG3350 a niveles bajos se obtienen las fuerzas de fractura mayores (≈ 15 N) con desintegración ≤ 12 minutos y licuefacción ≤ 22 minutos (corridas 1 y 11).

En general con PEG3350 al 60 % se obtienen los tiempos de licuefacción y desintegración más altos (corridas 2, 4, 6 y 13).

Las mezclas que contenían agua al nivel alto (10%) presentaron una mayor tendencia a incorporar aire en la masa fundida.

La relativa facilidad con que las burbujas de aire eran incorporadas puede deberse a la viscosidad de la masa fundida.

La viscosidad de las mezclas que contenían agua al 5% era mayor que las que contenían 10% de agua.

Mientras menos viscosa es la masa fundida presentará una menor resistencia al crecimiento de burbujas de aire en su interior a una velocidad de agitación dada. Teniendo en cuenta que la velocidad de agitación fue constante para todas las corridas (≈ 600 RPM), puede deducirse que las mezclas más viscosas (5% agua) presentarán un movimiento menos turbulento al oponerse al flujo, y por lo tanto la incorporación de aire será menor.

Como se muestra en la tabla XX estas mezclas presentan también una resistencia a la fractura menor a 12 N (corridas 3, 9, 10, 12, 13 y 14); dificultándose su manipulación.

La estructura del óvulo se ve afectada ya que al solidificarse la masa se forman cavidades llenas de aire que son puntos de fractura potenciales.

b) Análisis estadístico

En las siguientes dos tablas se resumen los resultados para el anova del diseño d-optimal segundo grado para optimización de la fórmula I. La tabla XLIII muestra el análisis para el modelo lineal (explicado por los vértices o combinaciones lineales de límites bajos y altos), mientras que la tabla XLIV analiza un modelo cuadrático (mezclas de puntos centrales aristas y planos).

**TABLA XLIII RESULTADOS DEL ANOVA
MODELO LINEAL DISEÑO d-optimal segundo grado**

VARIABLE DE RESPUESTA	F _{cal}	PROB>F	R ²	C.V.
TIEMPO DESINTEGRACION	11.93	0.0007	0.7488	3.26
TIEMPO DE LICUEFACCION	11.7	0.0007	0.7452	3.85
TEMPERATURA DE FUSION	11.7	0.0007	0.7452	3.85
RESISTENCIA A FRACTURA	5.68	0.0117	0.5871	19.54

Los grados de libertad para el modelo lineal son 3,12.

F de tablas para $\alpha = 0.1$: 2.61

F de tablas para $\alpha = 0.05$: 3.49

**TABLA XLIV RESULTADOS DEL ANOVA
MODELO CUADRATICO DISEÑO d-optimal segundo grado**

VARIABLE DE RESPUESTA	F _{cal}	PROB>F	R ²	C.V.
TIEMPO DESINTEGRACION	2.794	0.1119	0.8074	4.03
TIEMPO DE LICUEFACCION	2.815	0.1103	0.8085	4.72
TEMPERATURA DE FUSION	3.07	0.0927	0.8216	1.41
RESISTENCIA A FRACTURA	1.662	0.2759	0.7138	23.01

Los grados de libertad para el modelo cuadrático son 9,6

F de tablas para $\alpha = 0.1$: 2.96

F de tablas para $\alpha = 0.05$: 4.10

Como podemos ver los datos se ajustan a modelos lineales para todas las respuestas. El modelo cuadrático explica un 80 % de los variación experimental pero los términos de segundo orden (coeficientes cuadráticos) no presentaron significancia extra sobre el modelo lineal.

Los coeficientes del modelo se presentan en la tabla XLV:

TABLA XLV COEFICIENTES DEL MODELO LINEAL PARA EL DISEÑO DE OPTIMIZACION FORMULA I

VARIABLE DE RESPUESTA	β_1	β_2	β_3	β_4
TIEMPO DE DESINTEGRACION	8.42	9.95	11.81	12.81
TIEMPO DE LICUEFACCION	16.09	17.13	21.48	23.74
TEMPERATURA DE FUSION	53.08	51.59	54.57	56.53
RESISTENCIA A FRACTURA	-7.21	8.05	15.40	13.20

c) Interpretación

El sistema de mezclas para esta fase está determinado por las combinaciones de los niveles extremos de los componentes ya que el modelo lineal se ajusta mejor a los datos. De manera que se aconseja observar las respuestas obtenidas para los niveles altos y bajos de cada componente, sin reparar demasiado en los puntos centrales o intermedios en composición.

En la tabla XLV se observa que β_1 (AGUA) presenta los valor menores para todas las variables, seguido de β_2 , (PEG400) β_3 (PEG1500) y β_4 (PEG3350). Puede suponerse que para encontrar composiciones óptimas se requiere en primer lugar observar el valor del coeficiente y después establecer límites inferiores o superiores según la respuesta deseada.

Por ejemplo para obtener una fuerza de fractura mayor a 15 N se requiere que PEG1500 ($\beta_3 = 15.40$) y PEG3350 ($\beta_4 = 13.20$) se presenten en niveles altos mientras que AGUA ($\beta_1 = -7.21$) y PEG400 ($\beta_2 = 8.05$) se encuentren a nivel bajo. Esto es resultado de la restricción $\sum X_i = 1$.

Es importante notar que el valor de $\beta_1 = -7.21$ para la resistencia a la fractura del óvulo confirma lo anteriormente dicho para la presencia de puntos de fractura en la estructura de la masa solidificada con burbujas de aire.

d) Superficie de respuesta

La superficie de respuesta (figura No. 22) elaborada con el modelo lineal presentó una zona óptima estableciendo los siguientes límites para las variables de respuesta:

Tiempo de desintegración (R1): <11.5 min.

Tiempo de licuefacción (R2): < 25 min

Temperatura de fusión (R3): >45°C

Fuerza de fractura (R4): >12.5 N

DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

A - PEG400

B - PEG1500

C - PEG3350

Constants:

AGUA = 6.00E-02

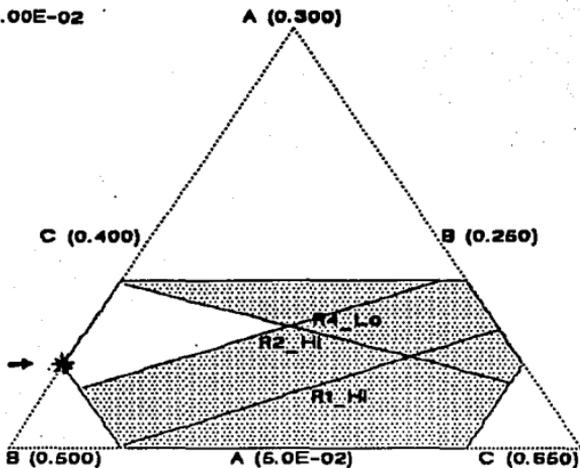


FIGURA No. 22 SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA LOCALIZACION DE OPTIMOS DISEÑO D-OPTIMAL FORMULA I

A partir de la superficie óptima se escogió la fórmula que presentaba la menor incorporación de aire para posteriormente resolver el problema mediante la adición de crospovidona. Dicha fórmula corresponde al punto marcado en la gráfica con un asterisco (ver figura No. 22). Su composición es:

AGUA:	5%
PEG400:	10%
PEG1500:	45%
PEG3350:	40%

La elección de niveles bajos de agua y PEG400 se debe sobre todo a la optimización de la resistencia a la fractura. La elección del nivel alto de PEG1500 y PEG3350 en su nivel bajo se basó en el hecho de que el coeficiente β_3 es el que presenta el valor más alto para la variable de fuerza de fractura con valores aceptables para tiempo de desintegración y licuefacción, mientras que β_4 presenta lo contrario.

Si bien la adición de crospovidona mejoró la apariencia física y resistencia a la fractura de la fórmula tentativa, no presentó ayuda en la desintegración de la fórmula.

Originalmente se planteó que el polímero sufriera un hinchamiento al contacto con agua para favorecer la disgregación de la masa en partículas más pequeñas, incrementando su superficie expuesta al medio acuoso. Sin embargo se observó que el óvulo más que desintegrarse, paulatinamente disminuía en tamaño conforme la base se disolvía en agua. Es probable que el polietilenglicol y la polivinilpirrolidona competiesen por las moléculas de agua disponibles, de manera que el equilibrio se inclinara a favor de la disolución de la base.

El hecho de que la crospovidona evite la incorporación de aire se atribuye al efecto viscosante del polímero sobre la masa fundida. La polivinilpirrolidona forma una red polimérica solvatada por moléculas de agua que a su vez pueden unirse al polietilenglicol por puentes de hidrógeno.

El resultado es una estructura que soporta las fuerzas de corte provocadas por la agitación (estado líquido- masa fundida) evitando la turbulencia y por tanto la incorporación de aire. Al solidificarse el óvulo, la masa presenta una estructura integral más compacta, lo que explica la optimización de sus propiedades mecánicas.

1.3.- ANALISIS QUIMICO Y PRUEBA DE DISOLUCION

De acuerdo a la tabla XXI, la nitrofurazona en la fórmula tentativa se encontró dentro de límites aceptables (95% a 105% según la norma interna) en todo el programa de ciclados a un mes. El activo no sufre una degradación importante a estas condiciones. La adición de crospovidona no favoreció la degradación de la nitrofurazona gracias a la escasa reactividad de las polivinilpirrolidonas.

Según el perfil de disolución (tabla XXII y figura No. 16) comprobamos que la liberación es completa a partir de los 20 minutos.

En el caso de que la nitrofurazona fuera un fármaco absorbible con efectos generales la cinética de disolución sería de vital importancia. Lo importante en nuestro caso es garantizar que la nitrofurazona puede ser liberada completamente para ejercer su efecto local. El perfil de disolución nos da un indicio de que la nitrofurazona puede ser liberada razonablemente de su forma farmacéutica en cantidad total de acuerdo a la dosis administrada.

2.- FORMULA II (NISTATINA)

2.1.- DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

a) Observaciones

De acuerdo a la tabla XXIII las mezclas que presentaron puntos de fusión inferiores a 45°C no soportaron el ciclado T.A./45°C. Estas mezclas contienen PEG1000 puro (corrida 3), PEG 1500 puro (corrida 10) y la mezcla binaria PEG1000/PEG1500 (corrida 1).

Como la nistatina es insoluble en los polietilenglicoles, las partículas pueden sedimentarse en la base fundida. Las partículas de nistatina deben presentar un tamaño mayor a 5µm para que la velocidad de sedimentación de la nistatina obedezca la ley de stokes. La concentración de la suspensión (1.4%) permite que las partículas no interfieran entre ellas durante la sedimentación, mientras que su tamaño favorece a la fuerza de gravedad sobre el movimiento browniano (32).

En cuanto a la resistencia a la fractura las mezclas que contienen PEG6000 pueden ser manipuladas con facilidad pero presentan tiempos de desintegración >13 min así como tiempos de licuefacción >24 min (corridas 2, 6, 7 y 9).

La corrida 10 (PEG1500 puro) presentó una resistencia a la fractura mayor que la corrida 5 (PEG3350 puro). Es de esperarse que el PEG3350 resultase más compacto debido a su

mayor peso molecular sin embargo para esta fórmula se observó que las mezclas que contienen PEG1500 soportaron una mayor tensión. La explicación a este fenómeno puede deberse a un acomodo más ordenado y estrecho de las partículas de nistatina en el polietilenglicol 1500 solidificado.

Suponemos que la ordenación interparticular nistatina-PEG puede obedecer a distintas fuerzas intermoleculares (efectos estéricos entre las moléculas macrórido-polióxietileno, fuerzas de Van der Waals o quizá enlaces de hidrógeno). Dependiendo de este ordenamiento activo-base la masa resultante podrá presentar un diferente módulo elástico (módulo de young), que macromolecularmente representa una medida de su dureza o rigidez (33).

La potencia de nistatina se encontró bajo el límite inferior que marca la norma de calidad (90 al 120%) para las corridas 3 y 4 (PEG1000 puro y la mezcla binaria PEG1000/PEG3350 respectivamente).

Las potencias más altas se presentan en las mezclas binarias de PEG1500 (corridas 1, 6 y 8). En la corrida 10 (PEG1500 puro) la potencia obtenida es de 98.23%.

Al parecer existe una cierta influencia del tipo de polietilenglicol en la potencia final de la nistatina por lo cuál es importante evaluar dicho efecto.

b) Análisis estadístico

A continuación se presenta el análisis estadístico para el diseño tamiz. En la tabla XLVI se muestran los resultados para el anova que analiza la significancia de los coeficientes lineales.

En la tabla XLVII se muestran dichos coeficientes obtenidos mediante la regresión múltiple:

**TABLA XLVI RESULTADOS DEL ANOVA
MODELO LINEAL DISEÑO TAMIZ FORMULA II**

VARIABLE DE RESPUESTA	Fcal	PROB>F	R ²	C.V.
TIEMPO DESINTEGRACION	14.77	0.0035	0.8807	13.07
TIEMPO DE LICUEFACCION	12.65	0.0053	0.8635	19.88
TEMPERATURA DE FUSION	8.096	0.0157	0.8019	7.88
RESISTENCIA A FRACTURA	2.002	0.2153	0.5002	82.86
POTENCIA DE NISTATINA	3.00	0.1170	0.6000	8.04

Los grados de libertad para el modelo lineal son 3,6

F de tablas para $\alpha = 0.1$: 3.29

F de tablas para $\alpha = 0.05$: 4.76

**TABLA XLVII COEFICIENTES DEL MODELO LINEAL PARA EL
DISEÑO TAMIZ DE FORMULA II**

VARIABLE DE RESPUESTA	β_1	β_2	β_3	β_4
TIEMPO DE DESINTEGRACION	5.8	10.47	13.8	17.13
TIEMPO DE LICUEFACCION	6.25	15.0	25.25	32.0
TEMPERATURA DE FUSION	38.87	45.53	56.53	57.87
RESISTENCIA A FRACTURA	-1.62	26.47	13.51	45.98
POTENCIA DE NISTATINA	81.01	106.42	95.67	100.94

c) Interpretación

Los resultados de la tabla XLVI nos muestran la significancia de las primeras tres variables de respuesta. Para las respuestas de fuerza de fractura y potencia de nistatina el valor de $F_{calculado}$ es menor que para los valores de tablas. Esto es indicativo de que las composiciones de las mezclas no tienen únicamente un efecto lineal importante sobre el producto final. En estos casos la porción lineal explica el 50% y 60% de la variación total de los datos. Posiblemente las mezclas presenten un efecto sinérgico o antagónico en cuanto a su composición y para comprobar esto se requiere de puntos de prueba adicionales para estimar efectos cuadráticos. Un diseño factible sería el simplex centroide {4, 3} o cúbico especial de preferencia con un mínimo de tres replicas en el centroide total. Para fines de escrutinio se continuó entonces con la siguiente fase determinando el valor de los coeficientes para el modelo lineal incluyendo todas las respuestas.

Según la tabla XLVII el PEG1000 (β_1) presenta los coeficientes más bajos y PEG6000 (β_4) los valores más altos, como era de esperarse para las evaluaciones físicas.

Sin embargo para la potencia de nistatina, es de importancia notar que los coeficientes varían entre sí en forma considerable tendiendo hacia el límite inferior que marca la norma de calidad (90%), por lo que para obtener un producto dentro de límites óptimos se requiere observar el efecto del componente para predecir subpotenciaciones del producto.

También se recalca el efecto de PEG1500 sobre el módulo elástico (resistencia a la fractura), el valor del coeficiente para esta respuesta β_2 es mayor que β_3 (PEG3350).

d) Superficies de respuesta

Los niveles óptimos fueron:

Tiempo de desintegración: <11 min.

Tiempo de licuefacción <20 min

Temperatura de fusión >45°C

Fuerza de fractura: >15 N

Potencia de nistatina: 90%-120%

DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

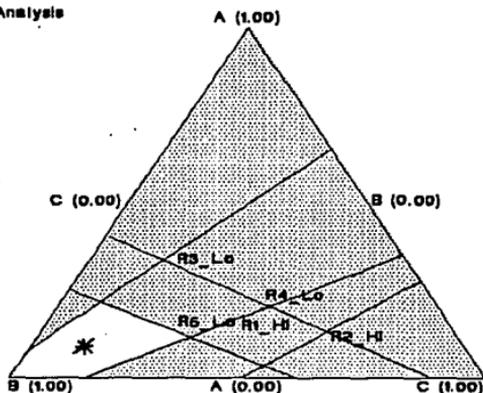
A = PEG1000

B = PEG1500

C = PEG3350

Constants:

PEG8000 = 0.000



A.- PEG 6000 A NIVEL CERO

DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

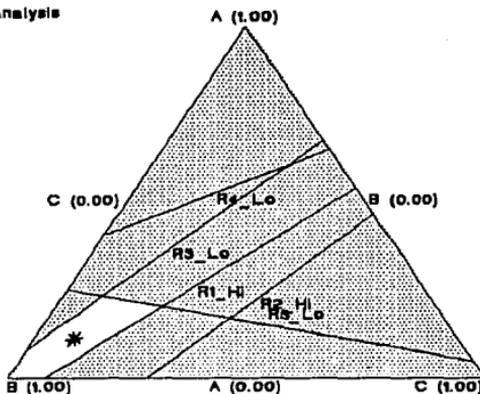
A = PEG1000

B = PEG1500

C = PEG8000

Constants:

PEG3350 = 0.000



B.- PEG3350 A NIVEL CERO

FIGURA No. 23 SUPERFICIES DE RESPUESTA PARA LOCALIZACION DE OPTIMOS DISEÑO TAMIZ FORMULA II

En la figura No. 23 se muestran dos superficies óptimas, una a un nivel cero de PEG6000 (A) y otra a nivel cero de PEG3350 (B).

Como podemos ver en ambas gráficas se pueden considerar composiciones óptimas para PEG1000 desde 0% hasta aproximadamente un 20 % y para PEG 1500 desde 75% hasta el 100%.

Las respuestas que delimitan la zona óptima para mezclas que contienen PEG1000 son: Potencia de nistatina en el nivel bajo (R_5 lo). Es probable que dicho polietilenglicol favorezca la subpotenciación de la nistatina cuando se presenta en proporción mayor al 20%.

Temperatura de fusión $>45^{\circ}\text{C}$ (R_3 lo). Se prefiere emplear PEG1000 para disminuir tiempo de desintegración y licuefacción con la precaución de obtener mezclas con temperaturas de fusión superiores a 45°C , esto es, con proporciones menores al 15% de PEG1000 (ver arista izquierda del simplex en ambas gráficas).

En cuanto a PEG3350 y PEG6000 la respuesta principal que delimita la zona óptima es R_1 Hi. (Tiempo de desintegración <11 min).

Las mezclas elegidas para los lotes prueba de la fase de optimización de la fórmula se presentan en ambas superficies marcadas con un asterisco.

2.2.- LOTES DE PRUEBA- OPTIMIZACION

En la tabla XXIV se muestran los resultados de las pruebas físicas para las dos fórmulas tentativas. Se comprueba la predicción del modelo propuesto ya que los estimados concuerdan muy cercanamente con los resultados obtenidos.

La fuerza de 15 N requerida para romper el óvulo fabricado con la fórmula A es superior a la que puede presentarse en condiciones normales de almacenamiento y manejo. También esta fórmula presentó tiempos de licuefacción y desintegración menores que la fórmula B (ambas con un punto de fusión mayor a 50°C). La adición de un 10% de PEG3350 fue suficiente para obtener un producto manejable. El nivel de PEG1000 de 15% resultó ser adecuado para optimizar la disolución de la base y por tanto la licuefacción del producto. El polietilenglicol en mayor proporción PEG1500 al 75% establece el equilibrio intermedio con las mejores características físicas y químicas. Por lo tanto se eligió la fórmula A como la mejor para este producto.

2.3.- ANÁLISIS QUÍMICO Y DISOLUCIÓN

La potencia de nistatina para esta formulación se conserva dentro de límites (90 al 120%) incluso a condiciones de ciclados T.A./45°C durante un mes (tabla XXV).

Al igual que para la fórmula I la nistatina debe ser liberada totalmente de su forma farmacéutica para poder ejercer su efecto local. El tratamiento de las infecciones micóticas es prolongado y se requiere la permanencia del activo recubriendo la mucosa dañada durante un tiempo adecuado para poder inhibir el crecimiento del hongo.

Los resultados presentados en la tabla XXVI y en la figura No. 17 nos dicen que la nistatina es liberada en disolución hasta un 63% de la cantidad total por óvulo en una hora. La concentración final alcanzada fue de 15.25µg/mL.

La concentración máxima que pudiese alcanzarse si se disolviera totalmente en agua la nistatina a la dosis por óvulo que se maneja, serían 24.2 µg/mL.

Dado que la nistatina presenta una solubilidad en agua de 54.54 µg/mL hablaríamos de que se pudiese disolver hasta un 44% del total posible en dicho solvente, siempre y cuando dicha solubilidad no fuera alterada. Sin embargo varios fenómenos pueden afectar la solubilidad en agua de la nistatina, lo que influiría en la máxima concentración alcanzada a estas condiciones. Entre otros fenómenos probables están la modificación de la constante dieléctrica del medio por la base, la formación de complejos parcial o totalmente insolubles entre la nistatina y los polietilenglicoles, solvatación y competencia por moléculas de agua entre PEG y nistatina, así como el pH final del medio.

La forma farmacéutica se desintegra a los 10 minutos aproximadamente y entonces la nistatina comienza a disolverse en el medio a partir de las partículas en suspensión. Lo importante es que se puede disponer de las partículas libres para ejercer el efecto local.

3.- FORMULA III

3.1.- FASE I. DISEÑO TAMIZ PARA FORMULACION

a) Observaciones

A excepción de la corrida 3 (PEG1000 puro), el tiempo de licuefacción para las composiciones estudiadas en este diseño se prolonga desde 24 minutos para la mezcla binaria PEG1000/PEG1500 (corrida 4) hasta 69 minutos para PEG6000 puro.

La licuefacción involucra un proceso de difusión o transporte pasivo inicial de las moléculas de agua a través de los poros de la membrana semipermeable de coloidón (el diámetro del poro sólo permite el paso de moléculas muy pequeñas como el agua).

Debido a la gran cantidad de sólidos que presenta esta fórmula, la concentración de saturación de la solución (sobre todo del metronidazol) se alcanzaba en forma rápida. Esto limitaba el flujo de agua a través de la membrana, ya que debido a la tendencia de las moléculas de soluto a disminuir el gradiente de concentración, bloqueaban los poros de entrada para el solvente.

Sólo hasta que el material licuado bajaba por gravedad hacia el extremo inferior del tubo de coloidón, el gradiente de concentración disminuía y por tanto el agua podría entonces difundir libremente por la membrana continuando así con el proceso de licuefacción.

Las corridas 3, 4 y 7 (mezclas que contienen PEG1000 puro o en combinación con PEG1500 y PEG3350), las corridas 10 (PEG1500 puro) y la corrida 2 (PEG3350 puro) presentaron problemas al manipularse ya que la fuerza de fractura para estas composiciones fue incluso menor a 6 Newtons.

Las mayores resistencias a la fractura se presentaron para las mezclas que contenían PEG6000 en el siguiente orden (menor a mayor resistencia):

PEG33500/PEG6000 < PEG1000/PEG6000 < PEG1500/PEG6000 < PEG6000 PURO
(corrida 8) < (corrida 9) < (corrida 6) < (corrida 5).

Nuevamente se presentó la incompatibilidad física entre PEG3350 y los sólidos incorporados, donde el arreglo intermolecular activo-PEG puede afectar el módulo de young en la masa ovular.

b) Análisis estadístico

A continuación se presenta el análisis estadístico para el diseño tamiz de la fórmula III. En la tabla XLVIII se presenta el anova y en la tabla XLIX los coeficientes para el modelo lineal propuesto:

**TABLA XLVIII RESULTADOS DEL ANOVA
MODELO LINEAL DISEÑO TAMIZ FORMULA III**

VARIABLE DE RESPUESTA	Fcal	PROB>F	R ²	C.V.
TIEMPO DESINTEGRACION	28.84	0.0006	0.9352	9.20
TIEMPO DE LICUEFACCION	9.481	0.0108	0.8258	21.98
TEMPERATURA DE FUSION	7.421	0.0192	0.7877	8.37
RESISTENCIA A FRACTURA	5.474	0.0375	0.7324	71.56

Los grados de libertad para el modelo lineal son 3, 6

F de tablas para $\alpha = 0.1$: 3.29

F de tablas para $\alpha = 0.05$: 4.76

**TABLA XLIX COEFICIENTES DEL MODELO LINEAL PARA
DISEÑO TAMIZ FORMULA III**

VARIABLE DE RESPUESTA	β_1	β_2	β_3	β_4
TIEMPO DE DESINTEGRACION	6.60	10.93	14.27	18.6
TIEMPO DE LICUEFACCION	14.17	41.67	64.0	75.17
TEMPERATURA DE FUSION	40.27	46.27	56.93	60.93
RESISTENCIA A FRACTURA	-1.59	19.76	6.05	70.02

c) Interpretación

De acuerdo a los resultados de la tabla XLVIII se comprueba la significación de los parámetros del modelo y el ajuste de los datos a un modelo lineal.

Se estima que las propiedades físicas de los componentes individuales explican entre un 73% (resistencia a la fractura) y un 93% (tiempo de desintegración) de la variación de los datos para las evaluaciones realizadas. Es probable que para la variable "resistencia a la fractura" influya también la alta proporción de sólidos que presenta el óvulo, su tamaño de partícula y por tanto el empaquetamiento al solidificarse la suspensión.

Como se muestra en la tabla XLIX el PEG6000 (β_4) presenta los coeficientes más altos para todas las respuestas, como era de esperarse según sus propiedades fisicoquímicas, entre todos los componentes analizados. En especial resultó de suma importancia el elevado tiempo de licuefacción encontrado para las mezclas que contenían los polietilenglicoles 3350 y el 6000 ($\beta_3 = 64.00$ y $\beta_4 = 75.17$ respectivamente); sin embargo las mezclas con tiempos de licuefacción bajos presentaban una consistencia demasiado blanda. Es el caso del PEG1000, donde para la respuesta tiempo de licuefacción el valor del coeficiente $\beta_1 = 14.17$, mientras que para la resistencia a la fractura $\beta_1 = -1.59$.

Debido a la mayor solubilidad en agua e higroscopicidad del PEG1000, el paso de agua a través de la membrana de difusión se vió favorecido en la licuefacción del óvulo. El

problema es que las mezclas que contienen PEG1000 en proporción alta no pueden ser manipuladas, además de que su temperatura de fusión no garantiza la resistencia al almacenamiento inadecuado.

Es de importancia notar que el polietilenglicol 1500 presenta un efecto superior al polietilenglicol 3350 en cuanto a la resistencia a la fractura como sucedió para la fórmula II ($\beta_2 > \beta_3$).

En un intento por encontrar el balance entre las variables de respuesta estableciendo rangos óptimos se descartó el polietilenglicol 3350, trabajando entonces con los pesos moleculares extremos 6000, 1000 y 1500.

d) Superficies de respuesta

Las tres superficies de respuesta que se presentan a continuación en la figura No. 24 muestran gráficamente el criterio empleado para establecer los límites de la zona experimental de la siguiente fase teniendo en cuenta que se propuso experimentar con la variable fija del primer diseño el PEG400 ya que puede contribuir en la optimización.

Se muestran tres gráficas cada una con un nivel constante de PEG6000. De arriba hacia abajo son:

- 1.- Nivel constante PEG al 0%
- 2.- Nivel constante PEG al 10%
- 3.- Nivel constante PEG al 20%

Los rangos de composición posibles para obtener un producto óptimo abarcan para el polietilenglicol 1000 desde un 40% hasta 70% aproximadamente. Para el PEG 1500 desde un 0 a 60%. Para el PEG3350 puede ocuparse a un 10% según los tres gráficos por lo que se concluye eliminarlo y trabajar en el balance de las respuestas con los pesos moleculares extremos. Por último como se muestra los niveles a trabajar para PEG6000 son desde 0% al 20%.

El hecho de que el PEG1000 no se trabaje en la siguiente fase a los niveles óptimos posibles (40 a 70%) se debe a la intención de estudiar mezclas con PEG400, por lo que se establecieron rangos de composición más bajos.

Los niveles óptimos de las respuestas utilizados son:

Tiempo de desintegración: <10 min.

Tiempo de licuefacción < 35* min

Temperatura de fusión >45°C

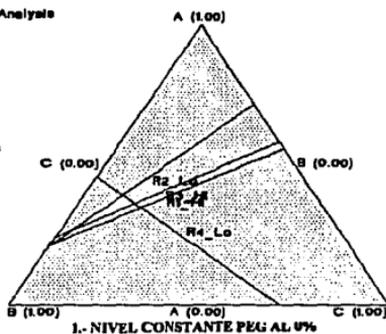
Fuerza de fractura: >10 N

*nivel mínimo posible dada la resistencia a la fractura del producto.

DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:
A = PEG1000
B = PEG1600
C = PEG3360

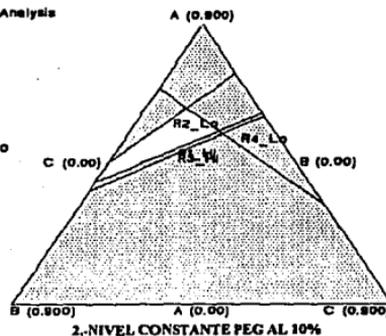
Constants:
PEG8000 = 0.000



DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:
A = PEG1000
B = PEG1600
C = PEG3360

Constants:
PEG8000 = 0.1000



DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:
A = PEG1000
B = PEG1600
C = PEG3360

Constants:
PEG8000 = 0.2000

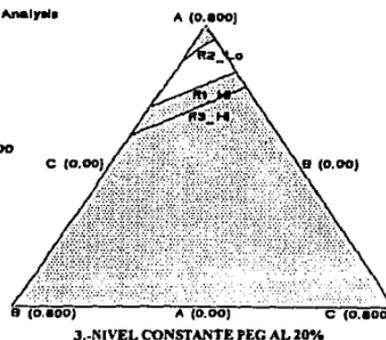


FIGURA No. 24 SUPERFICIES DE RESPUESTA PARA LOCALIZACION DE OPTIMOS DISEÑO TAMIZ FORMULA III

3.2.- FASE II OPTIMIZACION FORMULA

a) Observaciones

Según la tabla XXVIII las mezclas que contienen PEG6000 (corridas 4 y 5) presentan puntos de fusión superiores a 45°C y soportan las condiciones del ciclado a comparación de las que no lo contienen (corridas 1, 2 y 3).

La licuefacción y desintegración de las corridas 4 y 5 (PEG6000 20%) fueron más prolongadas a comparación de las corridas 1, 2 y 3 (PEG6000 0%). Esto se debe a la menor higroscopicidad y solubilidad en agua del PEG6000.

La corrida 1 con una resistencia a la fractura de 7.9 N presentó adherencia y deformación del producto al ser sacado de su contenedor. A excepción de esta mezcla las corridas que se componían de PEG1500 al nivel alto ya sea en presencia o ausencia de PEG6000 pudieron manipularse sin problema. Es notorio que el polietilenglicol 1500 favorece la resistencia mecánica de la masa con buena desintegración y licuefacción del óvulo.

b) Análisis estadístico

Se presenta en la tabla L los resultados del anova y en la tabla LI los coeficientes del modelo propuesto:

TABLA L RESULTADOS DEL ANOVA
MODELO LINEAL DISEÑO D-OPTIMAL PRIMER GRADO

VARIABLE DE RESPUESTA	Fcal	PROB>F	R ²	C.V.
TIEMPO DESINTEGRACION	33.21	0.1267	0.9901	3.54
TIEMPO DE LICUEFACCION	12.83	0.2018	0.9747	22.57
TEMPERATURA DE FUSION	407.1	0.0364	0.9992	0.59
RESISTENCIA A FRACTURA	3986.0	0.0116	0.9999	0.88

Los grados de libertad para el modelo lineal son 3,1

F de tablas para $\alpha = 0.1$: 53.6

F de tablas para $\alpha = 0.05$: 216

TABLA LI COEFICIENTES DEL MODELO LINEAL PARA
EL DISEÑO DE OPTIMIZACION FORMULA III

VARIABLE DE RESPUESTA	β_1	β_2	β_3	β_4
TIEMPO DE DESINTEGRACION	2.31	7.53	8.41	14.08
TIEMPO DE LICUEFACCION	-62.25	7.25	23.75	92.25
TEMPERATURA DE FUSION	34.10	43.70	45.3	63.3
RESISTENCIA A FRACTURA	-10.1	9.9	11.5	35.02

c) Interpretación

Las dos primeras respuestas no presentan un efecto significativo sobre el modelo lineal de acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla L. EL valor de F_0 es menor a la F tabulada. El diseño no permite estimar efectos de interacción (cuadráticos) para las mezclas y es posible que las respuestas 1 y 2 se ajusten a modelos de orden superior.

Se observa en la tabla LI que los dos componentes extremos en cuanto a peso molecular se refiere (PEG400 y PEG600) son los que establecen el balance en la optimización de las respuestas. Por ejemplo para el tiempo de licuefacción el coeficiente para PEG400 (β_1) para la variable tiempo de licuefacción tiene un valor de -62.25 mientras que para PEG6000 (β_4) el valor es de 92.25. Lo mismo sucede para la resistencia a la fractura del óvulo ($\beta_1 = -10.1$ y $\beta_4 = 35.02$). Esto último debe ser considerado para predecir el comportamiento de las mezclas que se establecen como fórmulas tentativas.

Como podemos ver el PEG400 y el PEG1000 pueden mejorar bastante la disolución de la base en agua e incluso favorecer la difusión de la masa licuada para que pueda distribuirse en el medio. Mezclas con polietilenglicol 6000 al 20% y PEG1500 a un nivel de 35% son más que suficientes para que el óvulo presente una consistencia manipulable y pueda resistir condiciones de almacenamiento a 45°C.

d) Superficies de respuesta

Las superficies de respuesta obtenidas para esta fase se presentan en la figura No. 25. Se establecieron los siguientes niveles de respuestas óptimas:

Tiempo de desintegración: <10 min.

Tiempo de licuefacción < 30* min

Temperatura de fusión >45°C

Fuerza de fractura: >12.5 N

*nivel mínimo posible dada la resistencia a la fractura del producto.

Las variables tiempo de licuefacción y fuerza de fractura se pudieron establecer a niveles más estrechos para disminuir el tiempo de liberación de los activos y a su vez facilitar la manipulación del óvulo.

Se muestran cuatro superficies. En cada una se establece como constante el vértice o nivel óptimo encontrado para el componente en cuestión. El orden en que se presentan es el siguiente (de izquierda a derecha y continuando hacia abajo):

1.- PEG400 al 20%,

2.- PEG1000 al 45%

3.- PEG1500 al 25%

4.- PEG6000 al 10%

La fórmula óptima establecida como tentativa se muestra marcada en dichas gráficas con un asterisco.

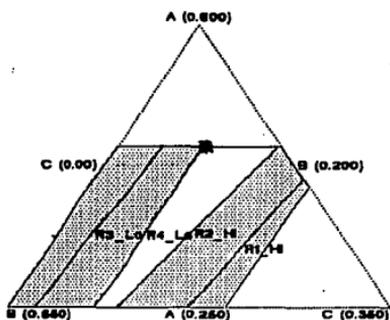
DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

A = PEG1000
B = PEG1500
C = PEG6000

Constants:

PEG400 = 0.2000



1.- PEG400 al 20%,

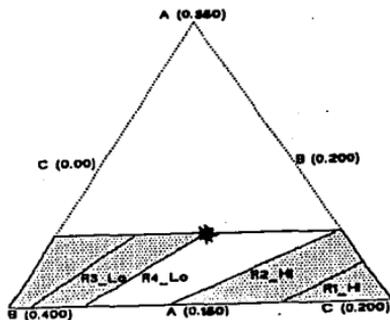
DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

A = PEG400
B = PEG1000
C = PEG6000

Constants:

PEG1000 = 0.4500



2.- PEG1000 al 45%

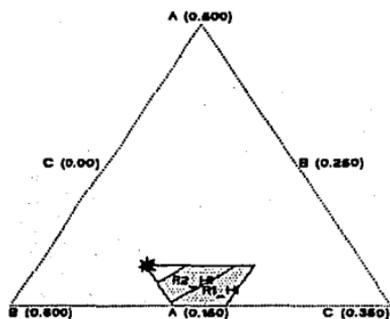
DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

A = PEG400
B = PEG1000
C = PEG6000

Constants:

PEG1500 = 0.2500



3.- PEG1500 al 25%

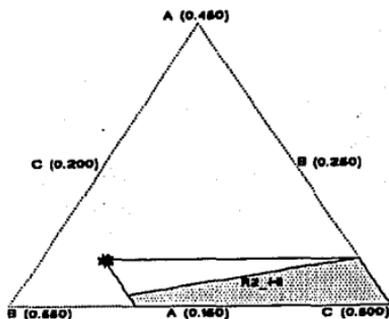
DESIGN-EXPERT Analysis

Variables:

A = PEG400
B = PEG1000
C = PEG1500

Constants:

PEG6000 = 0.1000



4.- PEG6000 al 10%

FIGURA No. 27 SUPERFICIE DE RESPUESTAS PARA LOCALIZACION DE OPTIMOS DISEÑO D-OPTIMAL FORMULA III

3.3.- LOTE DE PRUEBA PARA FORMULA TENTATIVA

El análisis físico de esta fórmula (TABLA XXIX) refleja el ajuste del modelo y la predicción de las respuestas obtenidas en base al mismo. Los resultados obtenidos para las evaluaciones físicas caen dentro de los intervalos óptimos que se establecieron para las superficies de respuesta (figura No. 25).

En cuanto al análisis químico (tabla XXX) se observa que para el acetónido de fluocinolona presenta inicialmente un 96.5%, la nistatina 95.5% y para el metronidazol 108.5%.

Los resultados obtenidos pueden atribuirse a las variables involucradas en el proceso de manufactura, es decir condiciones de operación, como temperaturas de la masa fundida, velocidades de agitación y tiempos de mezclado.

Se ha reportado que la inactivación vía oxidación de la nistatina puede ser facilitada por la temperatura del medio, con degradación de la estructura poliénica (34).

En el caso del acetónido de fluocinolona y del metronidazol también es posible que ocurra una degradación ya que en estabilidad a un mes (ciclados T.A./37°C y T.A./45°C) se observa una disminución en su potencia.

Algunos corticosteroides emparentados químicamente con el acetónido de fluocinolona han mostrado una degradación en soluciones que contienen polietilenglicoles como vehículo (35).

Esta degradación es dependiente de la concentración de peróxido y la temperatura de la solución. El nivel de peróxido en los polietilenglicoles varía según el peso molecular y se incrementa conforme pasa el tiempo (fenómeno de "envejecimiento").

Se reporta también que la adición de agua en la formulación disminuye el nivel de peróxido, reacción que dependió también de la temperatura. La inactivación del peróxido por el agua se favoreció a temperaturas de 60-80°C, por lo tanto el corticosteroide sufre una menor degradación, siempre y cuando su propia velocidad de termodescomposición no supere a la velocidad de inactivación del peróxido (35).

En el caso del metronidazol es posible encontrar muestras que correspondan a secciones sub o sobrepotenciadas del lote debido a la sedimentación y demezclado de este principio activo. Esta situación es bastante probable dada la proporción de metronidazol en suspensión.

3.4.- FASE III OPTIMIZACION DEL PROCESO DE MANUFACTURA

a) Observaciones

De acuerdo a la tabla XXXI podemos observar que las corridas que presentan contenido de acetónido de fluocinolona sobre el límite superior que marca la norma de calidad, es decir mayores al 105% son: 7, 9, 10, 11, 12, 14 y 15. A excepción de las corridas 14 y 15, las demás tienen en común que fueron fabricadas adicionando los principios activos al nivel alto de temperatura (67.5 °C). La tendencia de sobrepotenciamiento del activo puede deberse a la evaporación parcial o total del agua que contiene la fórmula (5%) a esta temperatura extrema, provocando que los demás componentes se concentren ligeramente.

Las potencias más bajas para acetónido de fluocinolona se presentaron en las corridas 13, 1 y 3. Tienen en común las condiciones: Tiempo de molienda a nivel alto (10 min) y temperatura de enfriamiento a nivel bajo (10°C). Aunque se encuentran dentro de límites de calidad, la disminución en el contenido del activo puede deberse en el caso del tiempo de molienda a la elevación considerable de la temperatura conforme el producto es molido (llegando incluso a 80°C). Esto puede provocar un choque térmico considerable que afecte la estabilidad del activo, al igual que enfriar la masa repentinamente a 10°C cuando se realiza el llenado de los moldes.

Para metronidazol se presentaron las siguientes corridas sobrepotenciadas: 1, 3 y 9. Las corridas 1 y 9 fueron fabricadas a una temperatura alta (67.5°C). Conforme aumenta la temperatura disminuye la viscosidad y la densidad de la masa fundida. De acuerdo a la ley de Stokes si esto sucede se favorece la sedimentación de los activos en suspensión. Por lo tanto en lotes donde se favorece la sedimentación del metronidazol, la muestra para análisis tiene una probabilidad más alta de presentar un alto contenido de principio activo si se trata de una sección sobrepotenciada de lote.

Para la variable Metro-delta que evalúa efectivamente este fenómeno de demezclado se observaron valores más altos (lotes menos homogéneos en contenido de metronidazol) para las corridas 1, 9, 10, 11, 13 y 14. A excepción de las corridas 13 y 14, se repite el efecto de la temperatura sobre la viscosidad y densidad de la masa fundida y por consiguiente el aumento en el grado de demezclado. Los valores más bajos se presentan en las corridas 3, 4, 5 y 7. A excepción de la corrida 7, en las otras corridas se mezcló por más tiempo para incorporar los activos a la masa fundida, por lo tanto se presentaron lotes más homogéneos.

En cuanto a la nistatina las corridas 3 y 4 presentaron las mayores potencias (norma de calidad marca de 90 al 120%). Ambas se fabricaron dejando un tiempo de incorporación de 120 minutos y agitando a 650 RPM (nivel alto) durante el llenado. La menor potencia se presentó en la corrida 1 donde el tiempo de incorporación fue de 40 minutos (nivel bajo).

En general en todo el diseño, las evaluaciones físicas no presentaron mucha variación entre las corridas. Solo en el caso del tiempo de licuefacción se notó cierta tendencia; las corridas 6, 7, 12 y 13 presentaron valores menores a 20 minutos. En las corridas 6, 7 y 13 se empleó el nivel bajo de tiempo de incorporación de los activos (40 minutos). Se atribuye este efecto a la evaporación del agua que contiene la fórmula cuando se mantiene por mayor tiempo la masa fundida en agitación. Al contener la base y los sólidos incorporados menos agua enlazada o de inclusión, se puede favorecer el flujo de dicho solvente a través del medio hacia el óvulo en proceso de licuefacción. Esto pudiese disminuir el tiempo neto del ensayo.

b) Análisis estadístico

Para el cálculo de los coeficientes se empleó el programa estadístico Design-Ease que emplea el método de regresión lineal múltiple por mínimos cuadrados. Se muestra como ejemplo el análisis para la respuesta **Potencia de acetónido de fluocinolona**. Los coeficientes para el diseño fraccionado 2^{5-1} se presentan como un medio de los efectos factoriales en la tabla LII:

TABLA LII EFECTOS FACTORIALES PARA LA VARIABLE DE RESPUESTA POTENCIA DE ACETONIDO DE FLUOCINOLONA

FACTOR	COEFICIENTE	EFEECTO	Ssefecto
A	0.700	1.400	7.84
B	0.137	0.275	0.30
C	-0.962	-1.925	14.82
D	0.162	0.325	0.42
E	0.350	0.700	1.96
AB	-0.025	-0.050	0.01
AC	0.300	0.600	1.44
AD	-0.550	-1.100	4.84
AE	-0.612	-1.225	6.00
BC	0.662	1.325	7.02
BD	-0.162	-0.325	0.42
BE	-0.275	-0.550	1.21
CD	-0.512	-1.025	4.20
CE	0.600	1.200	5.76
DE	-0.100	-0.200	0.16

PROMEDIO TOTAL (INTERCEPTO) 104.587

Para selección del modelo se presenta la siguiente gráfica de probabilidad normal de los efectos (figura No. 26).

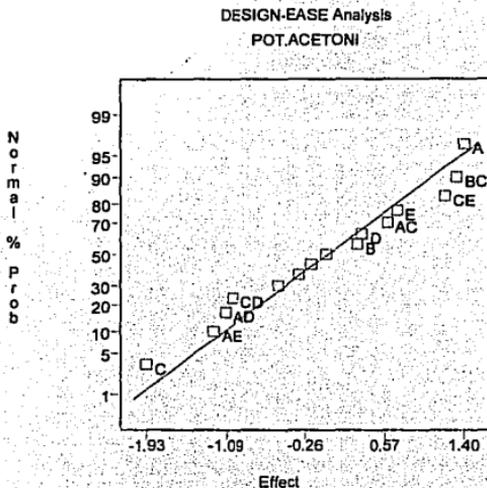


FIGURA No. 26 GRAFICO DE PROBABILIDAD NORMAL DE LOS EFECTOS PARA SELECCION DEL MODELO (CONTENIDO DE ACETONIDO DE FLUOCINOLONA) DISEÑO 2⁵⁻¹

Los efectos elegidos para inclusión en el modelo según la figura 26 son:
A, B, C, D, E, AC, AD, AE, BC, CD Y CE.

- A = Efecto principal de Temperatura de adición de principios activos
- B = Efecto principal de Tiempo de incorporación de los principios activos
- C = Efecto principal de Tiempo de molienda
- D = Efecto principal de Velocidad de agitación durante el mezclado
- E = Efecto principal de Temperatura de llenado

- AC = Efecto de interacción entre Temperatura de adición de principios activos y Tiempo de molienda
- AD = Efecto de interacción entre Temperatura de adición de principios activos y Velocidad de agitación durante el mezclado.
- AE = Efecto de interacción entre Temperatura de adición de principios activos y Temperatura de llenado
- BC = Efecto de interacción entre Tiempo de incorporación de los principios activos y Tiempo de molienda
- CD = Efecto de interacción entre Tiempo de molienda y Velocidad de agitación durante el mezclado
- CE = Efecto de interacción entre Tiempo de molienda y Temperatura de llenado

Estos coeficientes son los que presentan los valores más altos para las sumas de cuadrados individuales en la tabla LII y por lo tanto su componente de error tendrá probablemente un valor medio diferente de cero. Como la línea recta en el gráfico de probabilidad normal corresponde al valor cero del componente de error para el modelo, se concluye que los efectos elegidos, es decir aquellos que se alejan de la línea recta, presentan mayor importancia sobre el sistema.

Análisis del modelo

En la tabla LIII se muestra el análisis de varianza para establecer la significancia de los coeficientes elegidos sobre la media general:

**TABLA LIII ANOVA PARA EL MODELO ELEGIDO
(POTENCIA DE ACETONIDO DE FLUCINOLONA) DISEÑO 2⁵-1**

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GL	MEDIA CUADRATICA	F CALC.	PROB > F
MODELO	54.61500	11	4.9650	11.02	0.0166
RESIDUAL	1.80250	4	0.4506		
TOTAL	56.41750	15			

$\sqrt{\text{MSE}}$

0.67129

$R^2: 0.97$

C.V. %

0.64184

En la tabla LIV se presenta una prueba de t que analiza la hipótesis H_0 : Coeficiente = 0. Dicha prueba establece la significancia para cada coeficiente en particular:

TABLA LIV EVALUACION DE LOS COEFICIENTES DEL MODELO ELEGIDO (POTENCIA DE ACETONIDO DE FLUCINOLONA) DISEÑO 2⁵-1

FACTOR	COEFICIENTE	t PARA H_0 : COEFICIENTE = 0	PROB > t
INTERCEPTO	104.587		
A	0.700	4.17	0.014
B	0.137	0.82	0.459
C	-0.962	-5.74	0.005
D	0.162	0.97	0.388
E	0.350	2.09	0.105
AC	0.300	1.79	0.148
AD	-0.550	-3.28	0.031
AE	-0.612	-3.65	0.022
BC	0.662	3.95	0.017
CD	-0.512	-3.05	0.038
CE	0.600	3.58	0.023

^ A continuación en la figura No. 27 se analizan gráficamente los residuos $\epsilon = y - \hat{y}$ y para el modelo ajustado. Se presentan las siguientes 4 gráficas (de izquierda a derecha y de arriba abajo):

1.- Gráfica de probabilidad normal de los residuos.

2.- Gráfica ϵ contra \hat{y}

3.- Gráfica ϵ contra número de corrida

4.- Gráfica ϵ contra valor de t

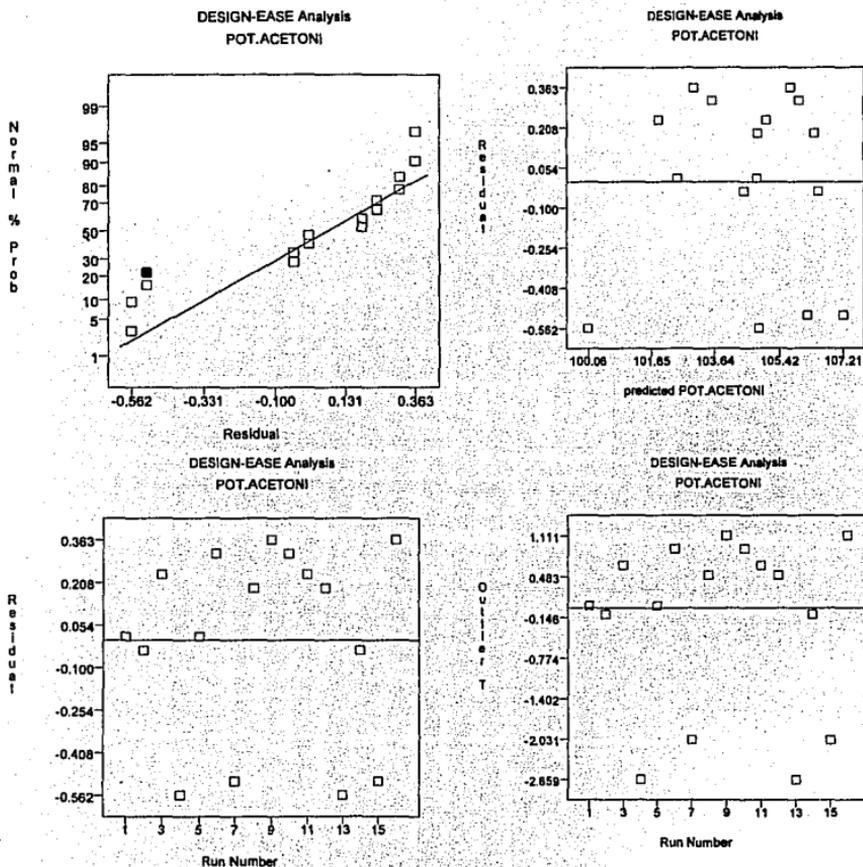


FIGURA No. 27 ANALISIS GRAFICO DE RESIDUOS (POTENCIA DE ACETONIDO DE FLUOCINOLONA) DISEÑO 2^{5-1}

La tabla LIII de anova muestra la significancia de los efectos factoriales ya que se observa incluso que los coeficientes elegidos contribuyen con un 97% de la variabilidad de los datos.

En la tabla LIV se analiza la probabilidad de que los coeficientes tengan un valor cercano a cero para considerarse nulos o sin efecto. Los factores B, D y AC están muy cercanos a cero según el valor para $PROB > t$, sin embargo los efectos principales deben ser incluidos en el modelo ya que están involucrados en interacciones importantes y el modelo debe ser jerárquico.

El ajuste del modelo puede verificarse mediante el análisis de las gráficas de residuos. En la figura 27 la primer gráfica muestra la probabilidad normal en % para los residuos (valor de respuesta observado en la corrida menos el estimado por el modelo propuesto). El análisis de varianza es válido si los puntos centrales forman una línea recta. En este tipo de gráficas es válido que los residuos alejados del centro de la línea formen una sigmoide con respecto a los demás puntos. Se observa que la corrida 15 (cuadro negro) puede estar cercana a considerarse como residuo inusitado ya que de los puntos localizados en la parte inferior de la recta, este es el más cercano al centro. En las otras tres gráficas no se observan patrones obvios que pudiesen anular las suposiciones del ANOVA.

Modelo ajustado

De acuerdo a los resultados obtenidos, la respuesta "contenido de acetónido de fluocinolona" puede estimarse dentro del rango de condiciones manejadas (interpolación) mediante los siguientes modelos:

a) Ecuación final en terminos de variables codificadas (+1 ó -1)

$$\begin{aligned} \text{CONTENIDO DE} \\ \text{ACETONIDO DE FLUOCINOLONA} = & 104.6 + 0.7A + 0.137B - 0.96C + 0.162D + 0.35E + 0.3AC - 0.55AD \\ & - 0.612AE + 0.66BC - 0.51CD + 0.6CE \end{aligned}$$

b) Ecuación final en terminos de variables decodificadas

$$\begin{aligned} \text{CONTENIDO DE} \\ \text{ACETONIDO DE FLUOCINOLONA} = & 95.8 + 0.27A - 0.04B - 2.13C + 0.02D + 0.46E + 0.02AC \\ & - 0.00028AD - 0.01AE + 0.00662BC - 0.00077CD + 0.032CE \end{aligned}$$

En donde:

A = Temperatura de adición de principios activos.

B = Tiempo de incorporación de principios activos.

C = Tiempo de molienda de la masa fundida.

D = Velocidad de agitación durante el llenado.

E = Temperatura de enfriamiento para solidificación de la masa en los contenedores.

Para las demás respuestas se exponen a continuación los modelos ajustados siguiendo el mismo procedimiento que para contenido de acetónido de fluocinolona. Las tablas LV y LVI muestran en resumen los modelos ajustados mediante el análisis estadístico de los datos:

TABLA LV RESUMEN DEL AJUSTE DE LOS MODELOS PARA LAS RESPUESTAS DEL DISEÑO 2⁵⁻¹ (1a. PARTE)

RESPUESTA	INTERCEPTO	A	B	C	D	E	AB	AC
CONT.ACETONIDO DE FLUOCINOLONA	104.59	0.70	0.14	-0.96	0.16	0.35	-----	0.30
CONTENIDO DE METRONIDAZOL	105.29	0.13	-0.12	0.24	0.03	-0.22	-0.18	-----
POTENCIA DE NISTATINA	102.53	0.16	1.84	1.66	1.90	0.47	0.22	-----
METRO DELTA	6.97	0.95	-1.33	0.16	-0.37	-0.72	0.81	1.88
TEMPERATURA DE FUSION	49.28	0.39	0.26	-0.13	0.09	0.05	-----	-----
TIEMPO DE LICUEFACCION	24.25	0.12	0.81	-0.50	-0.18	-----	-0.68	2.62
TIEMPO DE DESINTEGRACION	10.56	0.18	0.09	-0.09	0.06	0.06	-----	-----

TABLA LVI RESUMEN DEL AJUSTE DE LOS MODELOS PARA LAS RESPUESTAS DEL DISEÑO 2⁵⁻¹ (2a. PARTE)

RESPUESTA	AD	AE	BC	BD	BE	CD	CE	DE
CONT.ACETONIDO DE FLUOCINOLONA	-0.55	-0.61	0.66	-----	-----	-0.51	0.60	-----
CONTENIDO DE METRONIDAZOL	-----	0.29	0.46	-----	-0.18	0.36	-----	-----
POTENCIA DE NISTATINA	-----	2.72	2.60	2.34	-0.34	1.66	-0.28	-----
METRO DELTA	-0.47	0.60	-0.82	-0.53	-1.06	-1.41	-1.26	0.62
TEMPERATURA DE FUSION	-----	-0.10	-----	-----	-----	0.25	-----	-----
TIEMPO DE LICUEFACCION	-----	0.37	-----	-1.12	0.43	1.18	-1.75	-1.31
TIEMPO DE DESINTEGRACION	-----	-----	-0.31	-----	-----	0.21	-----	0.125

d) Interpretación

Como podemos ver en las tablas LV y LVI las condiciones del proceso pueden afectar de diferente manera a las características físicas y químicas finales del producto. Este efecto puede depender también de los niveles asignados para cada variable del proceso, si existe una interacción bifactorial importante.

En la variable "contenido de acetónido de fluocinolona" podemos ver que el coeficiente más alto se presenta en el efecto principal de A (0.70) y el valor más bajo en C (-0.96). Al

presentar un valor positivo el factor A (temperatura de adición de principios activos) es probable que manejando la temperatura de 67.5°C (nivel alto) el producto pueda sobrepotenciarse. Una explicación a este fenómeno es que el agua presente en la formulación se evapora a esta temperatura y por lo tanto el acetónido de fluocinolona disuelto en la base se concentra. Como podemos ver para los demás activos este coeficiente tiene un valor menor, es decir la temperatura de adición tiene un efecto menor pero en los tres casos es positivo. El acetónido de fluocinolona está presente a una concentración 40 veces menor a la de la nistatina y 1000 veces menor a la del metronidazol, por ello el efecto de la evaporación del agua es más importante en el primer activo. En cuanto al factor C (tiempo de molienda), su valor negativo implica que de manejarse el nivel alto (10 minutos) la elevación repentina de la temperatura debida a la fricción de las aspas del molino con las partículas en suspensión, puede provocar probablemente un choque térmico y afectar la estabilidad del activo.

Para la variable "contenido de metronidazol" el valor más alto de los coeficientes se presentó con el efecto de interacción BC. El primer caso implica que manejándose tiempos de incorporación más prolongados (B) con un tiempo de molienda de 10 minutos (nivel alto de C) pueden obtenerse potencias más altas. Para que pueda incorporarse el metronidazol se requerirá entonces de una agitación más prolongada y para homogeneizarlo adecuadamente será necesario molerlo por más tiempo.

En cuanto a la potencia de nistatina se observó que en general los coeficientes presentaron valores positivos por lo cual puede predecirse que las variables del proceso no tienden a degradar al producto o facilitar su subpotenciación. Los valores más altos se presentaron en el efecto principal B (tiempo de incorporación), en el efecto principal D (Velocidad de agitación durante el llenado) y en la interacción AE (temperatura de adición con temperatura de enfriamiento). Para evitar degradación de la nistatina se requiere entonces emplear una temperatura de adición mayor para que el mezclado de la nistatina sea más homogéneo en una masa menos viscosa. Pero para evitar una sedimentación posterior la temperatura de enfriamiento de la masa al llenar los contenedores debe ser menor para que el óvulo se solidifique rápidamente. La nistatina necesitará un tiempo de incorporación mayor y una velocidad alta de agitación durante el llenado.

Para la variable Metro-delta el efecto positivo más grande se presenta con la variable independiente A o efecto del factor "temperatura de adición". Como se mencionó anteriormente, al manejarse una temperatura mayor durante la adición de los activos se

favorece la sedimentación del metronidazol. La velocidad de agitación (factor D) presenta un efecto negativo (valor -0.37) sobre la homogeneidad de contenido de este activo, por lo cual se deduce que no es suficiente para mantenerlo en suspensión. De igual manera el manejar temperaturas de enfriamiento menores para solidificar rápidamente el óvulo no son de mucha ayuda dado el valor del coeficiente para el factor E (-0.72). Como puede verse, mientras más tiempo se mantenga en agitación el metronidazol a esta temperatura, se puede presentar un mayor grado de demezclado, ya que el valor del coeficiente para el factor B (tiempo de incorporación) es de -1.33.

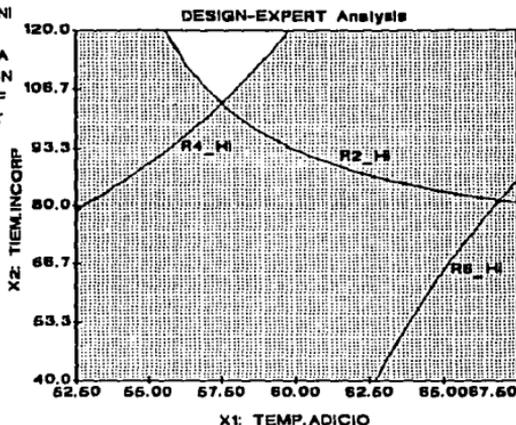
Para esta variable en especial nos conviene que los factores presenten un efecto cercano a cero, es decir nulo para que se garantice la uniformidad de contenido de metronidazol. El valor más cercano a cero se presenta para el factor C (tiempo de molienda) el coeficiente es igual a 0.16. Será entonces de vital importancia encontrar el tiempo de molienda más adecuado para optimizar el tamaño de partícula del metronidazol, disminuyendo entonces la sedimentación del activo y facilitando su homogeneización.

En general para las variables de respuesta físicas los valores absolutos de los coeficientes no son mayores a 0.5 excepto en la respuesta "tiempo de licuefacción" donde se observa que para el factor tiempo de incorporación $B = 0.81$ y en la interacción $AC = 2.62$. Se atribuye este resultado a la evaporación del agua que contiene la fórmula. Dependiendo del tiempo en que se mantenga la masa en agitación a la mayor temperatura será el grado de evaporación del agua y mientras menos agua contenga la fórmula la licuefacción podrá verse favorecida.

Con los modelos propuestos se construyó una superficie de respuestas para encontrar la zona óptima. Los niveles para las respuestas son:

Potencia de acetónido de fluocinolona:	95 a 105%
Potencia de Metronidazol:	95 a 105%
Potencia de Nistatina:	90 a 120%
Metro-delta:	0 a 5%
Temperatura de fusión:	>45°C
Tiempo de licuefacción:	<30 minutos
Tiempo de desintegración:	<11 minutos

R1: POT.ACETONI
 R2: POT.METRONI
 R3: PT.NISTATI
 R4: METR-DELTA
 R5: TEMP.FUSION
 R6: TIEM.LICUEF
 R7: TIEM.DESINT



FACTORES CONSTANTES:
 TIEMPO DE MOLIENTA = 10 min
 VELOCIDAD DE AGITACION = 650 RPM
 TEMPERATURA DE ENFRIAMIENTO = 10°C

**FIGURA No 27 SUPERFICIE DE RESPUESTA OPTIMA
 DISEÑO 2⁵⁻¹**

En la superficie de repuesta para el diseño 2⁵⁻¹ se puede apreciar que la zona óptima esta situada a las condiciones de trabajo siguientes:

- Temperatura de adición de los p.a. :57°C
- Tiempo de incorporación de los p.a.: 105 min.
- Tiempo de homogeneización o molienda: 10 min.
- Velocidad de agitación durante el llenado: 650 RPM
- Temperatura de enfriamiento: 10°C

Las dos principales variables que limitan esta zona son el contenido de metronidazol (R₂ Hi) o nivel alto = 105% y el parámetro de uniformidad de contenido del metronidazol (R₄ Hi) o diferencia absoluta del 5% en la *uniformidad de contenido* del metronidazol. De acuerdo a estos limites se observa que trabajando en un rango de temperatura de 55 a 60°C el metronidazol podrá mezclarse adecuadamente sólo si se agita la suspensión durante 120 minutos como mínimo, ya que la zona óptima para la temperatura de adición se ensancha

ensancha en el nivel alto del tiempo de incorporación. A mayores temperaturas la tendencia del metronidazol será a sedimentarse o demezclarse, no importando que velocidad de agitación, tiempo de molienda o temperatura de enfriamiento se utilice.

3.4.- PRUEBAS DE DISOLUCION

Acetonido de fluocinolona

De acuerdo a los resultados que se muestran en la tabla XXXIV y en la figura 18 el acetónido de fluocinolona alcanza una concentración del 43.7% a los 10 minutos y del 81.2% a las 60 minutos. Era de esperarse que este activo se liberara totalmente al momento en que el óvulo se desintegra (aproximadamente 11 minutos), ya que experimentalmente al fabricarse los lotes se observó que el activo se disuelve totalmente en las mezclas fundidas de polietilenglicoles. Al disolverse la base que lo contiene a nivel molecular, el acetónido de fluocinolona se ve expuesto a otro medio con diferente grado de polaridad y constante dieléctrica. Es probable que el acetónido precipite parcialmente al disolverse la base que lo contiene y entonces comience a disolverse nuevamente en el medio acuoso.

Nistatina

Según los resultados que se muestran en la tabla XXXV y en la figura 19, la nistatina va disolviéndose en forma gradual hasta alcanzar una concentración máxima del 64% en una hora. El perfil de disolución muestra una ligera pendiente conforme transcurre el tiempo de prueba. La disolución lenta de la nistatina puede deberse a la formación de aglomerados de partículas con una superficie menor expuesta al medio, además la solubilidad de la nistatina en este medio puede ser un factor limitante para que se alcance una concentración mayor a los 60 minutos. La capacidad del medio para disolver una mayor cantidad de nistatina puede verse influida por la presencia de los otros componentes (activos y la base) en el medio acuoso.

Metronidazol

En el caso del metronidazol se obtuvieron resultados satisfactorios de acuerdo a la tabla XXXVI y la figura 20. La liberación de 89.1 % del principio activo a los 40 minutos nos sirve de base para comparar futuros ensayos y quizá estudiar la cinética de disolución ya que como se ha visto el metronidazol es el único de los principios activos estudiados en este trabajo que puede llegar a absorberse para ejercer efectos generales.

CONCLUSIONES

- 1.- En el presente trabajo se pudo apreciar en forma práctica la utilidad y eficiencia de los diseños experimentales para optimizar la experimentación. El desarrollo de las fórmulas para óvulos se pudo realizar con un ahorro considerable de experiencias y recursos además que se pudo conocer el comportamiento de los sistemas (composiciones, factores y productos) involucrados en este proceso de experimentación. La experimentación se llevó a cabo en forma secuencial estableciendo en cada fase bases objetivas para continuar en el desarrollo y optimización con un enfoque hacia los propósitos fijados al inicio.
- 2.- El establecimiento de modelos mediante bases estadísticas nos permite pronosticar el futuro comportamiento de las fórmulas sobre todo para detectar problemas posteriores a su desarrollo, factores extraños que alteren el sistema. Se puede decir estadísticamente que los resultados son confiables, sujetos a un error experimental, pero siempre se hace necesaria la apreciación del experimentador ya que representa otra "variable" que actuó sobre los sistemas, teniendo la precaución de no concluir en forma subjetiva.
- 3.- Se han presentado las variables y condiciones a controlar para evitar que el producto presente rechazos en su evaluación fisicoquímica para garantizar su calidad y utilidad farmacéutica.
Las fórmulas obtenidas presentan las características planteadas en el objetivo principal del desarrollo experimental de este trabajo. Las bases de polietilenglicoles son convenientes para formular óvulos que resistan las condiciones inadecuadas de almacenamiento que comunmente se pueden presentar. Sus propiedades físicas y químicas permiten adecuar el producto a las necesidades del formulador siempre y cuando se encuentre el equilibrio adecuado entre ellas.

APENDICE A

QUIMIOTERAPIA DE LAS INFECCIONES VAGINALES

A1.- AGENTES ANTIMICROBIANOS

a) NITROFURAZONA

Los derivados del furano poseen acción antimicrobiana. La presencia de un grupo nitro en la posición 5 del anillo del furano le confiere actividad antibacteriana a varios furanos 2-sustituidos (36). La fórmula estructural de la nitrofurazona es la siguiente:

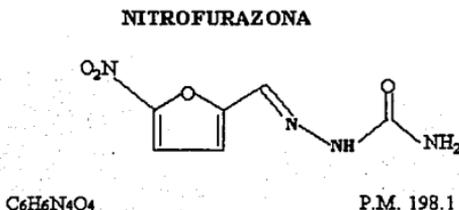


FIGURA A1. ESTRUCTURA DE LA NITROFURAZONA

Se trata de un compuesto amarillo-limón cristalino, estable al calor pero fotosensible. presenta una constante de disociación, pKa de 10.0.

Solubilidad: 1g/4200 mL de agua, 1g en 600 mL de etanol, prácticamente insoluble en éter y cloroformo.

Tiene un amplio espectro de actividad antibacteriana, siendo bactericida para muchos gérmenes gramnegativos y grampositivos, en concentraciones que van de 1:100 000 a 1:200 000. El mecanismo de su actividad bactericida es desconocido.

La nitrofurazona por aplicación local aún en bastante cantidad y durante mucho tiempo, no da lugar a fenómenos sistémicos, y sólo fenómenos de hipersensibilidad local. Si bien este fármaco se absorbe por vía digestiva e intramuscular, en su forma habitual de aplicación tópica lo es muy escasamente como se mencionó sin producir efectos generales.

Usos terapéuticos

La nitrofurazona se emplea tópicamente en la profilaxis y el tratamiento de infecciones superficiales, de la piel, mucosas, en heridas, quemaduras y úlceras contaminadas. La nitrofurazona es el fármaco de elección para el tratamiento tópico de infecciones vaginales de etiología bacteriana así como en la tricomoniasis (37, 38).

b) NISTATINA

La nistatina fue aislada en 1949 a partir del *Streptomyces noursei* y fue el primer antimicótico descubierto.

La nistatina es un antibiótico poliéxico. Estos compuestos contienen una región hidrófila (hidrocarburo hidroxilado) y una secuencia de cuatro a siete uniones dobles conjugadas que es lipofílica. La potencia de los preparados comerciales de nistatina se expresan en unidades. Cada miligramo del fármaco contiene no menos de 2000 unidades, para satisfacer las normas de la U.S.P.

Los estudios de solubilidad muestran lo siguiente:

SOLVENTE	UNIDADES/mL DISUELTAS
DIMETILFORMAMIDA	150 000
PROPILEGLICOL	100 000
METANOL	15 000
ETANOL	7 500
AGUA	300

La nistatina se presenta lo más comúnmente como un polvo blanco amorfo o parcialmente cristalino, pero en su forma más pura existe como agujas finas.

La presencia de porciones moleculares no saturadas o inestables en la molécula de nistatina la hacen inestable en presencia de luz, oxígeno y pH extremos (37).

pKa's : 4.5 y 8.64.

Su fórmula estructural es la siguiente:

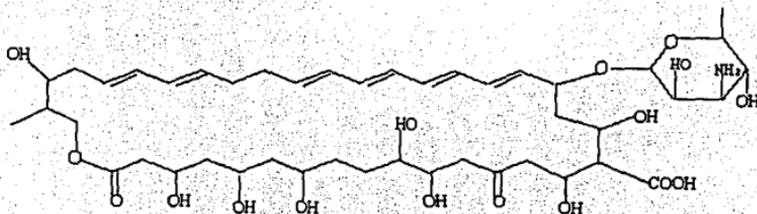


FIGURA A2. ESTRUCTURA DE LA NISTATINA

Usos terapéuticos

Se encontró que la actividad antimicótica in vitro de la nistatina incluye a hongos que causan tanto infecciones profundas como superficiales y se tuvo la esperanza de que pudiera ser de valor terapéutico en un amplio campo de infecciones micóticas.

La falta de absorción del antibiótico al ser administrado por vía oral y la importante toxicidad producida al ser administrado por vía general impidió su uso en el tratamiento de infecciones micóticas generales y confinó su valor terapéutico al tratamiento tópico de infecciones superficiales por *Candida albicans* de la piel y superficies mucosas.

La estomatitis y la vaginitis causadas por este microorganismo se benefician generalmente con el tratamiento tópico. Las tabletas y óvulos vaginales contienen 100 000 unidades del fármaco. Estos medicamentos son insertados una o dos veces al día durante 2 semanas (38).

c) METRONIDAZOL

El descubrimiento de la azomicina (2-nitroimidazol) en 1955 y la demostración de sus propiedades tricomonacidas abrieron el camino a la síntesis química y las pruebas biológicas de muchos nitroimidazoles. En 1959 se anunció la actividad biológica "in vitro" e "in vivo" del metronidazol comprobándose que con dosis orales podría obtenerse un alto porcentaje de curaciones en hombre y mujeres afectados de tricomoniasis.

Hasta la introducción del metronidazol, la terapéutica local con muchos y variados agentes curaba gran proporción de mujeres infectadas, pero dejaba casos crónicos intratables por los cuales poco podía hacerse. Además la infección masculina forma un reservorio de parásitos que lleva a la reinfección femenina por el contacto sexual; los hombres no pueden tratarse tópicamente. Con el uso del metronidazol gran parte de estos pacientes pueden curarse (38).

Química

Se presenta en cristales de color amarillo pálido con un punto de fusión de 158-160°C.

Solubilidad a 20°C (g/100 mL): Agua 1.0, Etanol 0.5, éter y cloroformo <0.05.

Tiene un pKa de 2.62 y su logP(octanol/pH 7.4) es de 1.18.

El metronidazol tiene la siguiente forma estructural:

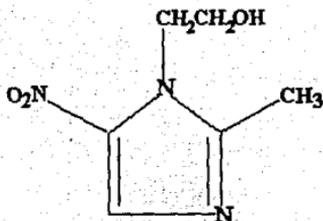


FIGURA A3. ESTRUCTURA DEL METRONIDAZOL

Usos terapéuticos

El metronidazol es directamente tricomonacida. Destruye el 99% de los microorganismos en cultivos de *Trichomonas vaginalis* en 24 horas en concentración de 2.5 mcg/mL. También es amebicida en concentraciones muy bajas.

La práctica común ha sido combinar el tratamiento oral con la administración de óvulos vaginales.

En algunos países los óvulos se prescriben mucho menos debido a que no hay una evidencia real que asegure el éxito al sustituirse la medicación oral por la vaginal únicamente.

Los óvulos por sí solos comúnmente fracasan debido a que el fármaco no alcanza a los *Trichomonas* alojados en el tracto genitourinario (39).

Farmacocinética

El metronidazol se absorbe bien después de su administración oral, rectal y parenterales. Por vía oral los niveles séricos alcanzados a las 3 horas son de 9 a 13 mg/L.

La biodisponibilidad del metronidazol por vía vaginal es del 25% con relación a la vía oral.

Menos del 50% se une a las proteínas del plasma; su vida media es de 6 a 10 horas y el 60 al 75 % se excreta por la orina. Se distribuye en todos los líquidos corporales (36, 39).

A2.- AGENTES ANTIINFLAMATORIOS

ACETONIDO DE FLUOCINOLONA

El acetónido de fluocinolona es un corticosteroide de aplicación tópica con actividad inflamatoria 200 veces superior a la de la hidrocortisona. Es perfectamente tolerado sin provocar irritación local ni signos de toxicidad general. Se absorbe sólo el 1% a nivel general. La molécula del fármaco le permite poseer un máximo grado de actividad antiinflamatoria y especificidad de acción.

Su estructura es la siguiente:

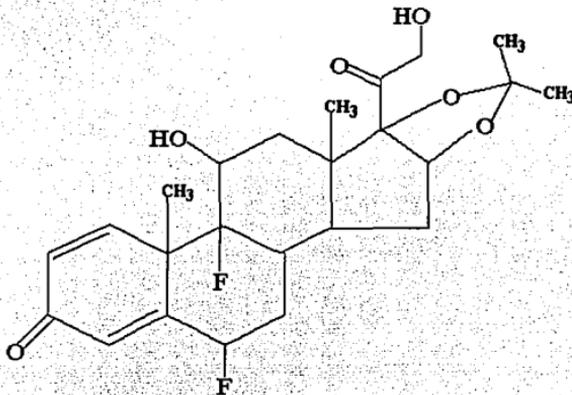


FIGURA A4 ESTRUCTURA DEL ACETONIDO DE FLUOCINOLONA

pKa = 2.5

Usos terapéuticos

La aplicación del acetónido de fluocinolona, incluso a dosis 20 veces superior a la terapéutica, no produce efectos generales. La ausencia de estos efectos permite el empleo del fármaco durante el tiempo necesario para lograr y mantener la curación de las lesiones incluso sin interrumpirse hasta por más de tres meses. Es quizá el corticosteroide más eficaz y mejor tolerado de los que se emplean para aplicación local.

El acetónido de fluocinolona es útil para el tratamiento de dermatosis, en particular las de carácter eczematoso como dermatitis crónica, queilitis, dermatitis exfoliativa, eritema polimorfo, lupus eritematoso y vulvovaginitis (36).

APENDICE B

REVISION DE CONCEPTOS ESTADISTICOS

Cada observación de un experimento puede denominarse una *prueba o corrida*. Debe tomarse en cuenta que hay diferencia entre las pruebas individuales, por lo cual existe fluctuación o discrepancia de los resultados. A esta discrepancia se le denomina *error experimental*.

Este es un error estadístico lo que significa que es un producto de una variación incontrolable y generalmente inevitable. La presencia del error implica que la variable de respuesta es una *variable aleatoria* (16).

DISTRIBUCION DE PROBABILIDAD

La estructura probabilística de una variable aleatoria, digamos "y", se describe por su *distribución de probabilidad*.

La media, la desviación estándar y la varianza son algunos de los parámetros más importantes que pueden estimar las características pertenecientes a una población.

La distribución de probabilidad queda definida por su media y por su desviación estándar.

La media representa el centro físico de un conjunto de datos, mientras la varianza y la desviación estándar son medidas de la dispersión (18).

INFERENCIA ESTADISTICA

Debido a que es imposible determinar un número infinito de valores de una población, nunca conoceremos los valores exactos de ésta. Sin embargo se pueden determinar los parámetros de una muestra de la población, para usarlos como *estimadores* de los parámetros de la población.

La mayoría de los métodos que se emplean suponen el uso de *muestras aleatorias*. Esto significa que si una población contiene N elementos, y una muestra de "n" de ellos será seleccionada, entonces el procedimiento empleado se denomina *muestro aleatorio* si cada una de las posibles muestras tiene la misma probabilidad de ser elegida.

La inferencia estadística hace gran uso de cantidades calculadas con las observaciones de una muestra. Hace uso de *estadísticas*.

La distribución de probabilidad de una estadística se denomina *distribución muestral*. Ejemplos de ellas pueden ser la distribución normal estándar, la distribución ji cuadrada ó χ^2 , la distribución t y la *distribución F*.

Esta última distribución es muy importante en el análisis estadístico de experimentos diseñados (17).

PRUEBA DE HIPOTESIS

Una hipótesis es una afirmación acerca de los parámetros de una población. Por ejemplo puede pensarse en comparar las medias poblacionales de dos muestras aleatorias. Quizá nos interese comprobar la hipótesis de que no existe diferencia entre ellas.

Formalmente se expresa de la siguiente manera:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

En donde H_0 es la hipótesis nula que establece la igualdad entre medias y H_1 es la hipótesis alterna.

Para probar una hipótesis hay que diseñar un procedimiento para tomar una muestra aleatoria y calcular una estadística de prueba apropiada con objeto de rechazar o no la hipótesis nula H_0 .

Parte de este procedimiento consiste en especificar el conjunto de valores de la estadística de prueba que conduzcan al rechazo de H_0 . Este conjunto de valores se denomina región crítica o región de rechazo de la prueba.

Al efectuar pruebas de hipótesis pueden cometerse dos tipos de error:

Error tipo I: Cuando la hipótesis nula es **rechazada** siendo verdadera.

Error tipo II: Cuando la hipótesis nula **no es rechazada** siendo falsa.

Las probabilidades de cometer estos errores reciben un símbolo especial:

$$\alpha = P(\text{error tipo I}) = P(\text{rechazar } H_0/H_0 \text{ es verdadera})$$

$$\beta = P(\text{error tipo II}) = P(\text{no rechazar } H_0/H_0 \text{ es falsa})$$

El procedimiento general de la prueba de hipótesis consiste en especificar un valor para α , la probabilidad de error tipo I, llamado a menudo, nivel de significación de la prueba (17).

INTERVALOS DE CONFIANZA

A pesar de ser un procedimiento útil, la prueba de hipótesis no siempre muestra la historia completa. A menudo es preferible proporcionar un intervalo que se espera contenga el valor del parámetro o parámetros bajo estudio. Estos intervalos se conocen como *intervalos de confianza*.

Con objeto de definir un intervalo de confianza supongamos que θ es un parámetro desconocido. Para obtener una estimación del intervalo de θ se necesita la determinación de dos estadísticas L y U de manera que el enunciado de probabilidad:

$$P(L \leq \theta \leq U) = 1 - \alpha$$

Sea verdadero. Este intervalo ($L \leq \theta \leq U$) se denomina intervalo de confianza de $100(1 - \alpha)$ por ciento para el parámetro θ .

Para interpretar este intervalo debe tomarse en cuenta que si en muestras aleatorias repetidas, se consideran un gran número de intervalos, el $100(1 - \alpha)$ por ciento de ellos contendrá el valor verdadero de θ (17).

ANÁLISIS DE VARIANZA

El análisis de varianza (ANOVA) es probablemente la técnica más útil en el campo de la inferencia estadística.

Permite la comparación de medias de varias poblaciones, suponiendo que una muestra aleatoria ha sido tomada de cada población y que cada población tiene una distribución normal con varianzas iguales (15).

Obviamente los datos **dentro** de cada grupo a comparar presentaran cierta dispersión. Esta variación está explicada por el error experimental.

La variación **entre** grupos debe ser explicada por algún fenómeno o variable independiente que actúe sobre la media poblacional provocándole cierto efecto.

El problema a resolver es si esta variación **entre** grupos es significativamente más grande que la variación **dentro** de los grupos analizados (16).

Anova unifactorial (one way)

Supongamos que se desea comparar distintos tratamientos sobre un sistema. Es útil describir las observaciones obtenidas de tal experimento mediante el modelo estadístico de clasificación:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, \dots, a$$

$$j = 1, 2, \dots, b$$

En donde y_{ij} es la (ij)-ésima observación, μ es un parámetro común a todos los tratamientos denominado media global, τ_i es un parámetro único para el i-ésimo tratamiento llamado efecto del tratamiento, j se refiere a las repeticiones y ε_{ij} es el componente aleatorio de error.

El objetivo del análisis de varianza será en este caso probar hipótesis apropiadas con respecto a los efectos del tratamiento y hacer una estimación en lo posible de ellos.

Para probar la hipótesis, se supone que los errores del modelo son variables aleatorias independientes con distribución normal, con media cero y varianza σ^2 . Se supone que esta última es constante para todos los tratamientos.

Este modelo se denomina ANOVA DE CLASIFICACION DE UN SOLO SENTIDO O UNIFACTORIAL porque sólo se estudia un sólo factor, *los tratamientos o niveles del factor*.

La denominación *análisis de varianza* resulta de descomponer la variabilidad total de los datos o suma total de cuadrados en sus partes componentes:

$$SS_{\text{Total}} = \sum_{a=1}^a \sum_{n=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2$$

Sus partes componentes están explicadas por la variabilidad **entre** y **dentro** de los tratamientos, es decir:

$$SS_{\text{Total}} = SS_{\text{tratamientos}} + SS_{\text{error}}$$

Donde $SS_{\text{tratamientos}}$ se denomina suma de cuadrados debida a los tratamientos (**entre tratamientos**) y SS_{error} se llama suma de cuadrados debida al error (**dentro tratamientos**).

Un dato importante es que si dividimos cualquier suma de cuadrados entre sus correspondientes grados de libertad obtendremos una estimación de su varianza. Por ejemplo:

$SS_{\text{tratamientos}} / (a-1)$ es una estimación de la varianza de los tratamientos. También llamada Media cuadratica de los tratamientos o $MS_{\text{tratamientos}}$.

$SS_{\text{error}} / (N-a)$ es una estimación de la varianza poblacional común de los tratamientos o MS_{error} .

$$MS_{\text{error}} = \sigma^2$$

Por lo tanto si no hay diferencias entre las medias de los tratamientos ($\tau_i=0$), la varianza de los mismos debe ser igual a la varianza del error o varianza poblacional. Es decir:

$$MS_{\text{tratamientos}} = MS_{\text{error}}$$

Esta es la hipótesis nula que el análisis de varianza debe examinar. Para ello si la hipótesis es verdadera, la razón:

$$F_0 = MS_{\text{tratamientos}} / MS_{\text{error}}$$

tiene una distribución F con $a-1$ y $N-a$ grados de libertad. Esta es la estadística de prueba. Como sabemos MS_{error} es un estimador de σ^2 , si la hipótesis nula es verdadera $MS_{\text{tratamientos}}$ también será un estimador de σ^2 .

Sin embargo si la hipótesis nula es falsa el valor de $MS_{\text{tratamientos}}$ es mayor que σ^2 . Esto implica una región crítica unilateral superior (17). En otras palabras se rechaza H_0 si:

$$F_0 > F_{\alpha, a-1, N-a}$$

Anova bifactorial (two way). Diseño aleatorizado por bloques completos.

En muchos problemas de investigación es necesario diseñar experimentos en los que pueda controlarse sistemáticamente la variabilidad producida por diversas fuentes extrañas.

Una situación especial puede ocurrir cuando se estudian a su vez dos factores. El objetivo primordial en este caso es determinar si los factores tienen o no, un efecto significativo sobre el sistema tomando en cuenta la variación inherente al error experimental.

Los factores se dividen en tratamientos y bloques. Cada observación corresponde a una combinación de tratamiento (primer factor) asignada dentro de cada bloque (segundo factor). Usando este diseño los bloques forman una unidad experimental más homogénea con la cuál comparar los tratamientos, mientras que es posible determinar ambos efectos.

El modelo estadístico para este diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, \dots, a$$

$$j = 1, 2, \dots, b$$

En donde μ es la media general, τ_i es el efecto de i -ésimo tratamiento, β_j es el efecto de j -ésimo bloque y ϵ_{ij} es el término usual de error aleatorio. El análisis estadístico para este modelo es similar que para el modelo de clasificación de un sentido con la diferencia que se analiza un término extra para los bloques. La descomposición de la suma de cuadrados total es:

$$SS_{\text{Total}} = SS_{\text{tratamientos}} + SS_{\text{bloques}} + SS_{\text{error}}$$

El diseño aleatorizado por bloques completos es quizás el diseño experimental más ampliamente utilizado. En la práctica, las situaciones en las que este diseño se aplica son muy numerosas y pueden detectarse fácilmente. Los lotes de materia prima, operadores o el equipo constituyen fuentes de variabilidad en un experimento, las cuales pueden ser controladas sistemáticamente mediante el análisis por bloques. (15, 17).

COMPROBACION DE LA VALIDEZ O IDONEIDAD DE UN MODELO

La descomposición de la variabilidad en las observaciones por medio del análisis de varianza requiere que ciertas suposiciones se satisfagan con el objeto de probar formalmente la igualdad en el nivel medio de los factores.

Los errores o residuos deben ser independientes y normalmente distribuidos con media cero y varianza constante pero desconocida σ^2 .

Si estas suposiciones son válidas, el procedimiento de análisis de varianza constituye entonces una **prueba exacta** para la hipótesis de igualdad en las medias de tratamientos. Pero por lo general estas suposiciones no se cumplen con exactitud en la práctica. En

consecuencia, es imprudente depender del análisis de varianza hasta que se hayan comprobado estos supuestos.

Las violaciones a estas suposiciones básicas y la bondad del modelo pueden ser investigadas fácilmente examinando los residuos.

El *residuo* de la observación j del tratamiento i se define mediante:

$$\varepsilon_{ij} = y_{ij} - \hat{y}_{ij}(\text{estimada})$$

en donde \hat{y}_{ij} es una estimación de la observación correspondiente calculada mediante el modelo propuesto.

El exámen de los residuos debe ser automático en el análisis de varianza.

Si el modelo es adecuado, los residuos no deben tener estructura. En otras palabras no debe haber patrones obvios. Muchas violaciones a los supuestos fundamentales pueden ser descubiertas mediante el análisis de los residuos.

Suposición de normalidad

Un procedimiento útil consiste en construir una gráfica de probabilidad normal de los residuos. Una gráfica de este tipo es la representación de la distribución acumulada de los residuos sobre papel de probabilidad normal.

Para construir una gráfica de probabilidad normal, deben disponerse los residuos en orden ascendente y graficar el k -ésimo de estos residuos ordenados contra su punto de probabilidad acumulada $P_k = (k-1/2)/N$ sobre papel de probabilidad normal. Si la distribución de los errores es normal esta gráfica pareciera una línea recta. Al visualizar dicha línea hay que poner más énfasis en los valores centrales de la gráfica que en los extremos.

Un defecto que a menudo se muestra en las gráficas de probabilidad normal es un residuo que es mucho mayor que los otros. La presencia de estos residuos inusitados puede distorsionar seriamente el análisis de varianza, por lo que cuando se detecta debe realizarse una cuidadosa investigación.

Si la respuesta distanciada es un valor particular deseable (desintegración rápida, dureza alta) este residuo distanciado puede proporcionar más información que el resto de los datos. Hay que ser cuidadoso para no descartar o rechazar una observación distanciada, a menos que no exista una base estadística para hacerlo.

Una manera para detectar residuos distanciados es analizar los residuos estandarizados:

$$d_{ij} = \epsilon_{ij} / \sqrt{MS_{\text{error}}}$$

Si los errores son normales con medias cero y varianza σ^2 , los residuos estandarizados deben ser aproximadamente normales con media cero y varianza igual a uno. Por lo tanto aproximadamente el 68% de los residuos estandarizados deben encontrarse entre los límites de ± 1 , alrededor del 95% entre ± 2 y practicamente todos deben estar entre ± 3 . Un residuo a una distancia mayor que 3 ó 4 desviaciones estándar del origen es potencialmente un residuo distanciado.

Gráfica de residuos contra número de corrida

Grficar los residuos contra el orden del tiempo en el que se recopilaron los datos es útil para detectar alguna correlación entre ellos.

Una tendencia a tener corridas con residuos positivos al inicio del experimento y corridas con residuos negativos al final indican una correlación entre los residuos. Esto implica que la suposición de independencia de los errores ha sido violada. Un paso importante para asegurar la independencia es realizar un procedimiento apropiado de aleatorización.

Algunas veces ocurre que la habilidad del experimentador (o de los operadores) cambia a medida que el experimento se desarrolla, o puede ocurrir que el proceso se "desvie", o se vuelva mas errático. Se produce un cambio en la varianza del error al transcurrir el tiempo.

Esta situación conduce a una gráfica de residuos contra la corrida que exhibe mayor dispersión en un extremo que el otro.

Gráfica de residuos contra el valor ajustado

Si el modelo es correcto y las suposiciones se satisfacen, los residuos no deben tener algun patrón, ni deben estar relacionados con alguna variable, incluyendo la respuesta y_{ij} . Una comprobación sencilla consiste en graficar los residuos contra los valores ajustados.

Un defecto que en ocasiones refleja esta gráfica es el de una varianza variable. Se puede comprobar esto cuando observamos en la gráfica un ensanchamiento en forma de embudo conforme avanza el experimento.

El enfoque usual para tratar varianzas variables consiste en aplicar una transformación y volver aplicar el análisis de varianza a los datos transformados (17).

ANÁLISIS DE REGRESION

En muchos problemas existen dos o más variables que están relacionadas y puede resultar importante modelar y explorar esta relación.

En general, supongamos que hay una sola variable dependiente o de respuesta "y", que depende de k variables independientes o de regresión, por ejemplo X_1, X_2, \dots, X_k . La relación entre estas variables se caracteriza por un modelo matemático conocido como ecuación de regresión que se ajusta a un conjunto de datos muestrales. Los modelos polinomiales se usan ampliamente para aproximar funciones.

Por lo general, el análisis de **varianza** en un experimento diseñado ayuda a determinar que factores son importantes, usándose el *análisis de regresión* para construir un modelo cuantitativo que relaciona los factores importantes con la respuesta (17).

Regresión lineal múltiple.

En muchos problemas donde se analizan experimentos diseñados intervienen más de una variable de regresión. El problema general consiste en ajustar el modelo:

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_k X_k + e$$

Los parámetros desconocidos (β_i) se denominan **coeficientes de regresión**. El modelo describe un hiperplano en el espacio de k dimensiones.

El método de mínimos cuadrados se usa para estimar dichos coeficientes (15, 16, 17).

La cantidad $SS_{\text{modelo}}/SS_{\text{total}}$ ó R^2 se conoce como **coeficiente de determinación** y se usa para juzgar la adecuación del modelo de regresión. Comúnmente se emplea $0 < R^2 \leq 1$ para referirse a la proporción de variabilidad de los datos explicada por dicho modelo.

APENDICE C
CALCULO DE LOS COEFICIENTES POLINOMIALES DE SCHEFFE PARA DISEÑOS
SIMPLEX (METODO DIRECTO).

MODELO LINEAL

$$y = \beta_i X_i + \beta_j X_j + \beta_k X_k$$

$$\beta_i = y_i$$

$$\beta_j = y_j$$

$$\beta_k = y_k$$

MODELO CUADRATICO

$$y = \beta_i X_i + \beta_j X_j + \beta_k X_k + \beta_{ij} X_i X_j + \beta_{ik} X_i X_k + \beta_{jk} X_j X_k$$

$$\beta_i = y_i$$

$$\beta_{ij} = 4y_{ij} - 2y_i - 2y_j$$

$$\beta_j = y_j$$

$$\beta_{ik} = 4y_{ik} - 2y_i - 2y_k$$

$$\beta_k = y_k$$

$$\beta_{jk} = 4y_{jk} - 2y_j - 2y_k$$

MODELO CUBICO ESPECIAL

$$\dot{y} = \beta_i X_i + \beta_j X_j + \beta_k X_k + \beta_{ij} X_i X_j + \beta_{ik} X_i X_k + \beta_{jk} X_j X_k + \beta_{ijk} X_i X_j X_k$$

$$\beta_i = y_i$$

$$\beta_{ij} = 4y_{ij} - 2y_i - 2y_j$$

$$\beta_j = y_j$$

$$\beta_{ik} = 4y_{ik} - 2y_i - 2y_k$$

$$\beta_k = y_k$$

$$\beta_{jk} = 4y_{jk} - 2y_j - 2y_k$$

$$\beta_{ijk} = 27y_{ijk} - 12(y_{ij} + y_{ik} + y_{jk}) + 3(y_i + y_j + y_k)$$

APENDICE D

ALGORITMO DE ANDERSON AND Mc LEAN PARA DEFINIR EL ESPACIO EXPERIMENTAL DISEÑO SIMPLEX VERTICES EXTREMOS

- 1.- Listar todas las posibles combinaciones de los límites bajos (ai) y altos (bi) ayudándose de los diseños factoriales a dos niveles. Primero se generaran un total de 2^{q-1} (diseño factorial) puntos.
Se repetirá el proceso dejando en blanco las columnas X_{q-1} , después X_{q-2} , hasta X_1 . El número total de combinaciones o planos serán $q(2^{q-1})$.
- 2.- En las columnas en blanco se anotarán los valores (+ ó -) necesarios para ajustar la suma de los niveles de los componentes a 1.0.
- 3.- De las columnas formadas se verificará que combinaciones son las que satisfacen las restricciones.
- 4.- La lista de vértices resultante deberá ser verificada cuidando de que no haya puntos repetidos.

Como ejemplo se utilizará el diseño d-optimal de segundo grado para cuatro componentes para la optimización de la fórmula I.

RANGOS DE ESTUDIO

COMPONENTE	NIVEL BAJO (ai)	NIVEL ALTO (bi)
AGUA (X1)	5%	10%
PEG400 (X2)	5%	15%
PEG1500 (X3)	25%	45%
PEG3350 (X4)	40%	60%

- 1.- Se generan $2^{4-1} = 2^3 = 8$ puntos

PUNTOS	COMBINACION FACTORIAL				VERTICE	NIVELES DE COMPONENTES			
	X1	X2	X3	X4		X1	X2	X3	X4
1	-	-	-	-		0.05	0.05	0.25	
2	+	-	-	-		0.1	0.05	0.25	
3	-	+	-	-		0.05	0.15	0.25	
4	+	+	-	-		0.1	0.15	0.25	
5	-	-	+	-		0.05	0.05	0.45	
6	+	-	+	-		0.1	0.05	0.45	
7	-	+	+	-		0.05	0.15	0.45	
8	+	+	+	-		0.1	0.15	0.45	

Se repite el proceso dejando en blanco las columnas X3:

9	-	-		-		0.05	0.05		0.4
10	+	-		-		0.1	0.05		0.4
11	-	+		-		0.05	0.15		0.4
12	+	+		-		0.1	0.15		0.4
13	-	-		+		0.05	0.05		0.6
14	+	-		+		0.1	0.05		0.6
15	-	+		+		0.05	0.15		0.6
16	+	+		+		0.1	0.15		0.6

Se repite el proceso dejando en blanco las columnas X2:

17	-		-	-		0.05		0.25	0.4
18	+		-	-		0.1		0.25	0.4
19	-		+	-		0.05		0.45	0.4
20	+		+	-		0.1		0.45	0.4
21	-		-	+		0.05		0.25	0.6
22	+		-	+		0.1		0.25	0.6
23	-		+	+		0.05		0.45	0.6
24	+		+	+		0.1		0.45	0.6

Se repite el proceso dejando en blanco las columnas X1:

25		-	-	-		0.05	0.25		0.4
26		+	-	-		0.15	0.25		0.4
27		-	+	-		0.05	0.45		0.4
28		+	+	-		0.15	0.45		0.4
29		-	-	+		0.05	0.25		0.6
30		+	-	+		0.15	0.25		0.6
31		-	+	+		0.05	0.45		0.6
32		+	+	+		0.15	0.45		0.6

El número total de puntos o combinaciones es $4(2^3) = 4(8) = 32$. Se ajusta la suma de los niveles a 1.0. Se verifica la lista en cuanto a restricciones y repeticiones:

PUNTOS	COMBINACION FACTORIAL				VERTICE	NIVELES DE COMPONENTES			
	X1	X2	X3	X4		X1	X2	X3	X4
1	-	-	-	-	NO	0.05	0.05	0.25	0.65
2	+	-	-	-	SI	0.1	0.05	0.25	0.6
3	-	+	-	-	SI	0.05	0.15	0.25	0.55
4	+	+	-	-	SI	0.1	0.15	0.25	0.5
5	-	-	+	-	SI	0.05	0.05	0.45	0.45
6	+	-	+	-	SI	0.1	0.05	0.45	0.4
7	-	+	+	-	NO	0.05	0.15	0.45	0.35
8	+	+	+	-	NO	0.1	0.15	0.45	0.3
9	-	-	-	+	NO	0.05	0.05	0.5	0.4
10	+	+	-	+	REPETIDO	0.1	0.05	0.45	0.4
11	-	+	+	-	SI	0.05	0.15	0.4	0.4
12	+	+	+	-	SI	0.1	0.15	0.35	0.4
13	-	-	+	+	SI	0.05	0.05	0.3	0.6
14	+	+	-	+	REPETIDO	0.1	0.05	0.25	0.6
15	-	-	+	+	NO	0.05	0.15	0.2	0.6
16	+	+	+	+	NO	0.1	0.15	0.15	0.6
17	-	-	-	-	NO	0.05	0.3	0.25	0.4
18	+	+	-	-	NO	0.1	0.25	0.25	0.4
19	-	-	+	-	SI	0.05	0.1	0.45	0.4
20	+	+	+	-	REPETIDO	0.1	0.05	0.45	0.4
21	-	-	-	+	SI	0.05	0.1	0.25	0.6
22	+	+	-	+	REPETIDO	0.1	0.05	0.25	0.6
23	-	-	+	+	NO	0.05	-0.1	0.45	0.6
24	+	+	+	+	NO	0.1	-0.15	0.45	0.6
25	-	-	-	-	NO	0.3	0.05	0.25	0.4
26	+	+	+	-	NO	0.2	0.15	0.25	0.4
27	-	-	+	+	REPETIDO	0.1	0.05	0.45	0.4
28	+	+	+	-	NO	0	0.15	0.45	0.4
29	-	-	-	+	REPETIDO	0.1	0.05	0.25	0.6
30	+	+	+	+	NO	0	0.15	0.25	0.6
31	-	-	+	+	NO	-0.1	0.05	0.45	0.6
32	+	+	+	+	NO	-0.2	0.15	0.45	0.6

Los vértices obtenidos son:

NIVELES DE COMPONENTES

NUMERO	X1	X2	X3	X4
1	0.1	0.05	0.25	0.6
2	0.05	0.15	0.25	0.55
3	0.1	0.15	0.25	0.5
4	0.05	0.05	0.45	0.45
5	0.1	0.05	0.45	0.4
6	0.05	0.15	0.4	0.4
7	0.1	0.15	0.35	0.4
8	0.05	0.05	0.3	0.6
9	0.05	0.1	0.45	0.4
10	0.05	0.1	0.25	0.6

Para el cálculo de los puntos medios entre aristas primero se establecen los planos límites ó caras límites del espacio experimental. En este ejemplo (tres dimensiones) cada vértice tiene tres aristas. Dos vértices están unidos por una misma arista si éstos tienen $q-2 = 4 - 2 = 2$ planos límites en común.

PLANOS LIMITE	VERTICES
X1 a nivel bajo; X1 = 0.05	2,4,6,8,9 y 10
X1 a nivel alto; X1 = 0.10	1,3,5,7
X2 a nivel bajo; X2 = 0.05	1,4,5,8
X2 a nivel alto; X2 = 0.15	2,3,6,7
X3 a nivel bajo; X3 = 0.25	1,2,3,10
X3 a nivel alto; X3 = 0.45	4,5,9
X4 a nivel bajo; X4 = 0.40	5,6,7,9
X4 a nivel alto; X4 = 0.60	1,8,10

Para encontrar estas aristas es mejor representar los vértices y los planos graficamente. El punto medio se calcula promediando los dos vértices involucrados. Por ejemplo: El vértice 2 y el 6 tienen en común los planos límite X1 a nivel bajo y X2 a nivel alto por lo cual pueden ser unidos por una arista.

Los dos vértices involucrados son:

X1	X2	X3	X4	
0.05	0.15	0.25	0.55	vértice 2
0.05	0.15	0.4	0.4	vértice 6

Para calcular el punto medio entre la arista formada se promedian los vértices:

X1	X2	X3	X4	
0.05	0.15	0.25	0.55	vértice 2
0.05	0.15	0.4	0.4	vértice 6
0.05	0.15	0.325	0.475	PUNTO MEDIO

APENDICE E

CALCULO DE LOS EFECTOS FACTORIALES (METODO DIRECTO)

Un contraste es un vector o combinación lineal obtenido de la matriz factorial que implica una diferencia de promedios de los niveles altos del factor menos los promedios al nivel bajo del factor.

Es ortogonal por que el contraste resta el mismo número de coeficientes con signos negativos al mismo número de coeficientes positivos siendo un arreglo balanceado o equilibrado.

Para determinar los coeficientes de los contrastes siempre es útil construir una tabla de signos positivos y negativos como la siguiente:

Por ejemplo para un diseño 2^3 :

TABLA E1 SIGNOS PARA LOS COEFICIENTES DE LOS CONTRASTES DEL DISEÑO 2^3
EFECTO FACTORIAL

COMBINACION DE TRATAMIENTOS	I	A	B	AB	C	AC	BC	ABC
(I)	+	-	-	+	-	+	+	-
a	+	+	-	-	-	+	+	+
b	+	-	+	-	-	+	-	+
ab	+	+	+	+	-	-	-	-
c	+	-	-	+	+	-	-	+
ac	+	+	-	-	+	+	-	-
bc	+	-	+	-	+	-	+	-
abc	+	+	+	+	+	+	+	+

La columna I o columna identidad se refiere al promedio general y siempre se compone de signos positivos. Los signos para estimar una interacción son el producto algebraico de los coeficientes de cada factor correspondiente.

Para encontrar un contraste con el fin de estimar un efecto simplemente se elige el vector columna de dicho efecto y se multiplican sus signos por cada combinación de tratamientos correspondiente. Por ejemplo, el contraste para estimar el efecto A es:

$$-(I) + a - b + ab - c + ac - bc + abc.$$

En este método lo único que resta es dividir el contraste entre el número de signos positivos (o negativos) con que cuenta el contraste. Este denominador es el número de combinaciones de tratamiento por nivel que se promedian para calcular el efecto. Concordando este cálculo con la definición del término *efecto*.

Para el ejemplo anterior tenemos que el número de signos positivos del contraste para A es 4 por lo cual el efecto de A es:

$$A = 1/4n[a + ab + ac + abc - (1) - b - c - bc]$$

en donde n es el número de réplicas de cada punto del diseño. Las respuestas obtenidas después de realizar el experimento en cada combinación de tratamientos se sustituyen en la ecuación.

El uso de contrastes también facilitan el análisis de varianza para establecer la significación de los efectos.

La suma de cuadrados de un efecto es:

$$SS = \frac{(\text{contraste})^2}{n2^k}$$

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ansel Howard C., Popovich Nicholas. **Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems**. Editorial Lea & Febiger. 5a. edición. E.U.A. 1990. Capítulo 11, Págs: 373, 374 Y 377.
- 2.- Lachman Leon, Lieberman H. **The theory and practice of industrial pharmacy**. Editorial Lea & Febiger. E.U.A. 1986. Capítulo 19 . Págs: 565-587.
- 3.- Helman José. **Farmacotecnia teoría y Práctica** (Tomo VII, Capítulo 57) Cia. Editorial Continental, S.A De C.V; México. 3a. Impresión, Nov. de 1982. Págs: 2017-2047.
- 4.- Añache J. M., Devissaguel J. PH. **Biofarmacia**. Editorial El Manual Moderno, México, D.F: 1983. páginas 324-326, 354-358.
- 5.- **Handbook of pharmaceutical excipients**. American Pharmaceutical Association . E.U.A, 1986. Págs: 209-213.
- 6.- Glas B., Blaey C.J. **Rectal therapy**. Editorial J.R. Prous Publishers. Págs: 5-10.
- 7.- Guillot B.R., Lombard A.P. **The suppository excipients, galenic aspects, technological considerations and biopharmaceutical elements**. Editorial Maloine S.A. París 1973. Págs:6-8.
- 8.- Henkel International GmbH Dtsseldorf. **Masas para supositorios Novata**. Informacion y empleo Productos Dehydag.1-20, 1985.
- 9.- Craig D.Q.M. **Polyethylene Glycols and drug release**. Drug Development and Industrial Pharmacy, 16, 17, 2501-2526 (1990)
- 10.- Kellaway Ian W. **Correlations between physical and drug release characteristics of polyethyleneglycol suppositories**. Journal Of Pharmaceutical Sciences, 64, 7, 1162-1166, 1975.
- 11.- Smith H.F. Jr. **The toxicity of the polyethyleneglycols**. Journal Of American Pharmaceutical Association, 39, 349, 1950.
- 12.- Van Buskirk G.A. **Workshop III report: Scaleup of liquid and semisolid disperse systems**. Pharmaceutical Research, 11, 8, 1216-1220, (1994).
- 13.- Serrano Luna María., Sánchez M. Rosa Ma. **Infecciones cervicovaginales**. Infectología, 5, 331, 1982.

- 14.- Mendoza A. Irma. **Tratamiento polivalente de la cervicovaginitis.** Investigación Médica Internacional 4, 523, 1977.
- 15.- Armstrong N.A., James K.C. **Understanding experimental design and interpretation in pharmaceuticals.** Series in pharmaceutical technology. Edit. Ellis Horwood Limited, Inglaterra 1990. Páginas 9-17, 81-90.
- 16.- Box G.E.P., Hunter W. **Statistics for experimenters.** Editorial John Wiley & Sons, Inc. Nueva York E.U.A. 1978, Páginas 291-300, 307-336, 375-390 Y 511-537.
- 17.- Montgomery Douglas C. **Design and analysis of experiments.** Editorial John Wiley & Sons, Inc. Nueva York E.U.A. 1987, Capítulos 1-5, 7, 9, 11, 15 Y 16.
- 18.- Breyfogle F. **Statistical methods for testing, development and manufacturing.** Editorial John Wiley & Sons, Inc. Nueva York E.U.A. 1985, Capítulo 17 Páginas 258-271.
- 19.- Cornell John A. **Fractional design plans for process variables in mixture experiments.** Journal Of Quality Technology . 16, 1, 20-22, 1984.
- 20.- Sucker H. **The use of optimization techniques in pharmaceutical development.** Drug Development And Industrial Pharmacy, 15 (6 Y 7), 1021-1028 (1989)
- 21.- Cornell John A. **A comparison between two ten-point designs for studying three-component mixture systems.** Journal Of Quality Technology. 18, 1, 1-15, 1986.
- 22.- Gorman J.W., Hinman J.E. **Simplex lattice designs for multicomponent systems.** Technometrics, 4, 4, 463-484, (1962).
- 23.- Lewis G.A., Chariot M. **Non classical experimental designs in pharmaceutical formulation.** Drug Development And Industrial Pharmacy, 17, 12, 1551-1570 (1991).
- 24.- Lewis G., Chariot Maryvonne. **Flexible experimental design in pharmaceutical development: Optimal designs for formulation and process optimization.** Pharmaceutical Technology International, Septiembre 1992.
- 25.- Vuchkov I.N., Damgaliev D.L., Yontchev CH.A. **Sequentially generated second order quasi D-Optimal designs for experiments with mixture and process variables.** Technometrics, 23, 3, 233-238, (1981).
- 26.- Palmieri Anthony. **Suppository dissolution testing: Apparatus design and release of aspirin.** Drug Development And Industrial Pharmacy, 7, 2, 247-259, (1981).
- 27.- **The United States Pharmacopeia XXI.** The National Formulary XVII. USA, 1990.

- 28.- Fantelli S., Setnikar I. **Liquefaction time of rectal suppositories.** Journal Of Pharmaceutical Sciences, 51, 6, 566-571, 1962.
- 29.- Roseman T.J., Derr G.R. **Continuous flow bead-bed dissolution apparatus for suppositories.** Journal Of Pharmaceutical Sciences, 70, 6, 646-651, (1981).
- 30.- Wernel L., Borzelleca J. **Drug absorption from the rectum I.** Journal Of Pharmaceutical Sciences, 54, 12, 179C-1793, (1965).
- 31.- Palmieri Anthony. **Dissolution of suppositories III: Effect of insoluble polyvinylpyrrolidone on acetaminophen release from peg suppositories.** Drug Development And Industrial Pharmacy, 8, 4, 421-442 (1983).
- 32.- Palmieri Anthony. **Dissolution of suppositories IV: Effect of crospovidone on aspirin release from peg bases.** Drug Development And Industrial Pharmacy, 10, 1, 137-156 (1984).
- 33.- Martín Alfred, Swarbrick James. **Physical pharmacy.** Editorial Lea & Febiger. 3a. edición. Filadelfia, E.U.A. 1983. páginas 125, 270-325.
- 34.- Belenkii, B.G. **Photo and thermoinactivation of Na.Nystatin.** Antibiotiki. 11 (2), 112-117, (1966).
- 35.- McGinity J., Hill John A. **Influence of peroxide impurities in polyethylene Glycols on drug Stability.** Journal of Pharmaceutical Sciences. 64, 2, 356-357, (1975).
- 36.- Litter Manuel. **Farmacología experimental y clínica.** Editorial El Ateneo. 7a. Edición. Buenos Aires Argentina 1988. Páginas 1424-1427, 1631-1633, 1680 Y 1681
- 37.- Drill. **Farmacología médica.** Editorial La Prensa Médica Mexicana 4a. edición en español, México D.F. 1971. Páginas 1631, 1632 Y 1737.
- 38.- Goodman A., Gilman. **Las bases farmacológicas de la terapéutica.** Editorial Médica Panamericana. 6a. edición, México, D.F. 1981.
- 39.- Roé F.J.C. **Metronidazole: Review of uses and toxicity.** Journal Of Antimicrobial Chemotherapy 3, 205-212 (1977).