

48  
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

ESTUDIO DE PREFORMULACION Y FORMULACION  
PARA UNA SOLUCION OTICA QUE CONTENGA  
BENZOCAINA, CLORAMFENICOL  
E HIDROCORTISONA.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A

**RUBEN } ORDOÑEZ BONILLA**

UNAM  
FES  
ZARAGOZA



MEXICO, D. F.

1998.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

260413.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

*Este trabajo está dedicado a mis  
padres Rafael y Delia, por darme la  
vida y la oportunidad de  
desarrollarme profesionalmente.  
Gracias*

*A mis hermanos: Rafael, Blanca,  
Rosa, Laura y muy en especial a  
Marcos Antonio, por el cariño y  
respeto que nos brindamos.*

*A mis amigos Antonio Tellez,  
Julian Mayer y Eleuterio  
Rodriguez por una amistad de toda  
la vida, que la distancia y el tiempo  
no pueden cambiar.*

*A mi amigo y compadre Felix  
Lozada P. y familia, por el apoyo  
que siempre me han brindado.*

*A mis amigas, Teresa Orrala J. y  
Elsa M. Martinez S., con todo  
respeto, por su criticas y consejos  
siempre valiosos.*

**Lugar donde se realizó el proyecto experimental.**

**Laboratorios Columbia S. A. de C. V.**

**Departamento de Desarrollo Farmacéutico**

**Agradezco a mis asesores M. en C. Patricia Parra Cervantes e I. Q. Primitivo Tapia Silva, sin su apoyo y paciencia este trabajo no se hubiera logrado.**

**Jurado**

**Presidente: M. en C. Patricia Parra Cervantes.**

**Vocal: I.Q. Primitivo Tapia Silva.**

**Secretario: Q.F.B. Lourdes Cervantes Martínez.**

**Suplente: Q.F.B. Ramón Soto Vazquez.**

**Suplente: Q.F.B. Esperanza Jimenez Castañeda**

## INDICE DE TEMAS

sección		página
1	<b>INTRODUCCION</b>	1
2	<b>FUNDAMENTACION TEORICA</b>	
	2.1 Preformulación	2
	2.2 Formulación	4
	2.3 Optimización	6
	2.4 Propiedades de los ingredientes activos	
	2.4.1 Cloramfenicol	7
	2.4.2 Benzocaína	8
	2.4.3 Hidrocortisona	9
	2.5 Agentes conservadores	10
	2.6 Antioxidantes	11
	2.7 Otitis externa	12
	2.8 Preparados óticos	12
3	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	14
4	<b>OBJETIVOS</b>	15
5	<b>HIPOTESIS DE TRABAJO</b>	16
6	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	
	6.4 Metodología experimental	17
	6.4.1 Diagrama de flujo	18
	6.5 Procedimiento Metodología Experimental	
	6.5.1 Preformulación	19
	6.5.2 Formulación	21
	6.5.3 Optimización	22
7	<b>RESULTADOS</b>	
	7.1 Preformulación	23
	7.2 Formulación	37
	7.3 Optimización	39

8	<b>ANALISIS DE RESULTADOS</b>	
	<b>8.1 Preformulación</b>	48
	<b>8.2 Formulación</b>	51
	<b>8.3 Optimización</b>	52
9	<b>CONCLUSIONES</b>	40
10	<b>APENDICE "A"</b>	57
11	<b>APENDICE "B"</b>	60
12	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	62

## INDICE DE TABLAS

Tabla número	Título	página
6.1	Pruebas de solubilidad para cada uno de los activos y sus diferentes combinaciones.	19
6.2	Pruebas para la selección de un agente conservador.	20
6.3	Fórmulas tipo con diferente vehículo.	21
6.4	Selección de un agente antioxidante.	21
7.1	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con el disolvente 1.	23
7.2	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con el disolvente 2.	24
7.3	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con el disolvente 3.	24
7.4	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con el disolvente 4.	25
7.5	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con el disolvente 5.	25
7.6	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1 para conservador I.	30
7.7	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3 para conservador I.	31
7.8	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1 para conservador II.	31
7.9	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3 para conservador II.	32
7.10	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1 para conservador III.	32
7.11	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3 para conservador III.	33
7.12	Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con fórmulas completas.	37
7.13	Resultados de valoración para Benzocaína en la optimización de fórmula.	39



7.14	Resultados de valoración para Cloramfenicol en la optimización de fórmula.	39
7.15	Resultados de valoración para Hidrocortisona en la optimización de fórmula.	40
7.16	Ajuste a un 100% de la cantidad inicial	40
7.17	Resultados del análisis de varianza para los efectos temperatura, principio activo y antioxidante.	41
7.18	Contraste de hipótesis para los tres factores y sus interacciones.	42
7.19	Resultados del análisis de varianza para Benzocaína.	43
7.20	Contraste de hipótesis para Benzocaína, con dos factores y sus interacciones.	43
7.21	Resultados del análisis de varianza para Cloramfenicol.	44
7.22	Contraste de hipótesis para Cloramfenicol, con dos factores y sus interacciones.	45
7.23	Resultados del análisis de varianza para Hidrocortisona	46
7.24	Contraste de hipótesis para Hidrocortisona, con dos factores y sus interacciones.	46
11.1	Análisis de varianza para los efectos temperatura, activo y antioxidante	60
11.2	Análisis de varianza para cada uno de los principios activos.	61

## INDICE DE GRAFICAS

Gráfica número	Titulo	página
7.1	Variación de pH para Benzocaína en diferentes disolventes.	26
7.2	Variación de pH para Cloramfenicol en diferentes disolventes.	27
7.3	Variación de pH para Hidrocortisona en diferentes disolventes.	27
7.4	Variación de pH para mezclas Benzocaína-Cloramfenicol en diferentes disolventes.	28
7.5	Variación de pH para mezclas Benzocaína-Hidrocortisona en diferentes disolventes.	28
7.6	Variación de pH para mezclas Cloramfenicol-Hidrocortisona en diferentes disolventes.	29
7.7	Variación de pH para Benzocaína-Cloramfenicol-Hidrocortisona en diferentes disolventes.	29
7.8	Comparación de pH para Benzocaína con los disolventes y conservadores propuestos.	33
7.9	Comparación de pH para Cloramfenicol con los disolventes y conservadores propuestos.	33
7.10	Comparación de pH para Hidrocortisona con los disolventes y conservadores propuestos.	34
7.11	Comparación de pH para Benzocaína-Cloramfenicol con los disolventes y conservadores propuestos.	35
7.12	Comparación de pH para Benzocaína-hidrocortisona con los disolventes y conservadores propuestos.	35
7.13	Comparación de pH para Cloramfenicol-Hidrocortisona con los disolventes y conservadores propuestos.	36
7.14	Comparación de pH para Benzocaína-Cloramfenicol-Hidrocortisona con los disolventes y conservadores propuestos.	36
7.15	Comparación de pH en las dos fórmulas propuestas con y sin antioxidantes.	38
7.16	Comparación de valoración para Benzocaína en fórmulas con y sin antioxidante.	44
7.17	Comparación de valoración para Cloramfenicol en fórmulas con y sin antioxidante.	45
7.18	Comparación de valoración para Hidrocortisona en fórmulas con y sin antioxidante.	47

## INDICE DE FIGURAS

Figura número	Título	página
2.1	Fórmula desarrollada de Cloramfenicol.	7
2.2	Fórmula desarrollada de Benzocaina.	8
2.3	Fórmula desarrollada de Hidrocortisona.	9
8.1	Reacción de degradación para Benzocaina	53
8.2	Reacción de degradación para Cloramfenicol	54
8.3	Reacción de degradación para Hidrocortisona	55

## I. INTRODUCCION

En la actualidad la administración de medicamentos vía tópica es de gran relevancia, al ser aplicados en el sitio donde se requiere, evita que se causen otros problemas al organismo, además de que actúan de una manera más rápida en esto radica la importancia de crear productos farmacéuticos con características de aplicación local. Por otra parte debido al crecimiento de las grandes ciudades y la contaminación generada dentro de ellas, algunas enfermedades como infecciones en oído son más frecuentes y surge la necesidad de contar con medicamentos que puedan aliviar estas molestias.

Los estudios de preformulación y formulación en el desarrollo de nuevos productos, proporcionan información para elaborar formas farmacéuticas estables y seguras, fundamenta la utilización de los diferentes excipientes que se pueden usar, así como el procedimiento de manufactura y material de acondicionamiento más adecuado.

El presente trabajo marca los lineamientos en el desarrollo de una forma farmacéutica, que consiste en una solución ótica de tres ingredientes activos que son: Hidrocortisona, Cloramfenicol y Benzocaina. Fueron seleccionados un disolvente, un agente conservador y un antioxidante como los componentes de la fórmula.

Dentro de la fórmula el principio activo más inestable es Cloramfenicol, sufre una degradación mucho más rápida que la Hidrocortisona y la Benzocaina. La presencia de un antioxidante mejora la estabilidad del Cloramfenicol y la Hidrocortisona. El más estable de los tres resulta Benzocaina, tiene la menor degradación dentro de la formulación y la presencia del antioxidante no modifica su estabilidad así lo demuestra el modelo estadístico que se utilizó.

La fórmula desarrollada puede ser ahora sometida a una estabilidad formal y realizar el proceso de escalación a nivel producción.

## 2. FUNDAMENTACION TEORICA

### 2.1. Preformulación

Para poder elaborar un producto farmacéutico, es necesario el conocer y comprender las propiedades físicas y químicas de el o los ingredientes activos antes de formular dicho producto farmacéutico, son muy raros los casos en que el ingrediente activo es administrado solo, por lo general forma parte de una formulación. (2, 7, 18).

La preformulación se puede definir como la etapa en el desarrollo de un producto farmacéutico en el que se caracterizan propiedades fisicoquímicas de la sustancia activa para diseñar una forma farmacéutica estable. Estos parámetros son:

- Apariencia; sólido o líquido. Si es sólido su forma: cristal o amorfa. En el caso de las estructuras cristalinas, se caracterizan por espacios repetitivos de las moléculas o átomos en arreglos tridimensionales. Las amorfas por otra parte se encuentran colocadas de manera aleatoria como si estuviesen formando un líquido. La solubilidad es mayor para las estructuras amorfas. Para las formas cristalinas en algunos compuestos se pueden encontrar diferentes especies, esto se conoce como polimorfismo. El polimorfismo ocasiona cambios en el punto de fusión, densidad, propiedades ópticas y por lo tanto modifica su biodisponibilidad.

Para investigar la forma de una sustancia existen varias técnicas:

a) Microscopía; con luz polarizada que atraviese una sustancia y dependiendo de como sea desviada puede diferenciar formas cristalinas y amorfas.

b) Análisis Térmico; la calorimetría diferencial mide la pérdida de energía calorífica como resultados de cambios físicos o químicos, se puede utilizar para conocer pureza, polimorfismo y compatibilidad con excipientes.

c) Análisis Termogravimétrico, mide cambios en función del peso, como función del tiempo o temperatura sobre todo para las sustancias que se presentan como solvatos. Rayos X; establece la reproducibilidad de la forma cristalina de lote a lote.

- Higroscopicidad, propiedad de los sólidos que se refiere a la tendencia para absorber humedad atmosférica, puede modificar su estabilidad química, propiedades de flujo y compactación. En la preformulación se puede

determinar la sensibilidad a la humedad. Esto dará el soporte mas adelante para un control de humedad tanto en proceso de manufactura como en material de empaque.

- Solubilidad; los parámetros de solubilidad en los estudios de preformulación incluyen: determinación del pKa, solubilidad contra temperatura, perfil de solubilidad contra pH, mecanismos de solubilidad y velocidad de disolución. El pKa fundamenta el como se puede realizar la absorción de un principio activo, relaciona las concentraciones de principio activo no ionizado y activo ionizado, la forma no ionizada es la que se absorbe. El perfil de pH, indica la región donde es mayor la solubilidad en función del pH, o en una región específica de pH como se comporta la solubilidad. Efecto de temperatura; el calor de solubilidad ( $\Delta H_s$ ) relaciona la cantidad de calor absorbido o desprendido cuando un soluto se disuelve. Generalmente los procesos son endotérmicos,  $\Delta H_s$  positivo, para las sales ionizables. En los procesos exotérmicos,  $\Delta H_s$  negativo, para compuestos que no se ionizan por completo, como ácidos y bases débiles. Mecanismos de solubilidad, en la preformulación también es posible modificar la solubilidad mediante la adición de cosolventes, en un sistema donde la solubilidad es baja, un ejemplo son los cosolventes utilizados en sistemas con agua donde un soluto no polar marcadamente hidrofóbico disminuye dicha interacción por un cosolvente, mejorando su solubilidad. La velocidad de disolución está controlada por propiedades como hábito cristalino, tamaño de partícula, solubilidad, área de superficie y humectación, la disolución permite saber el potencial de biodisponibilidad, compactando el principio activo, colocándolo dentro de un equipo donde el área de disolución sea constante se puede evaluar su velocidad de disolución, aunque el compactarlo pueda modificar su forma cristalina, en otros casos se puede utilizar el principio activo en una suspensión, pero aquí el problema son cambios en el área de superficie, cambios en la morfología de la superficie del cristal y humectado intersticial. Estos parámetros se deben considerar al elegir un método de evaluación de la disolución.

Una segunda etapa en la preformulación son los estudios de estabilidad que se realizan tanto en forma líquida como en sólido. Los estudios de estabilidad en solución identifican las condiciones necesarias para una forma estable en solución. Estos estudios incluyen efecto del pH, fuerza iónica, cosolventes, luz, temperatura y oxígeno. En el caso del pH se investiga en que pH se tiene la máxima estabilidad, junto con variables como fuerza iónica por efecto de soluciones amortiguadoras de pH y cosolventes. Al someterse a condiciones de temperatura elevada y cuantificar el principio activo se puede obtener información acerca de su cinética de degradación frente a

condiciones específicas. De esta manera se puede realizar la incorporación de agentes que disminuyan su degradación, o evaluar en que pH funciona mejor por ejemplo un efecto antioxidante. Después de estos estudios de estabilidad, si el compuesto es lo suficientemente estable en forma líquida el desarrollo para una forma farmacéutica líquida se puede iniciar, por el contrario si es inestable se tendrá que seguir investigando agentes que estabilicen o que condiciones para su manejo sean las más adecuadas. La estabilidad como sólido, es realizada con el activo sometido a diferentes condiciones de temperatura, luz, humedad tanto solo y con diferentes excipientes, estos estudios pueden verse afectados por cambios en la pureza y cristalinidad de principio activo. En estado sólido en ocasiones es mas difícil medir cambios debido a que las reacciones son mas lentas, la metodología analítica utilizada debe ser muy sensible, se recomienda la calorimetría diferencial. sobre técnicas de cromatografía de líquidos, que para el caso de soluciones debido a que las reacciones son mas rápidas si es adecuada. (2, 7, 8, 12).

### 2.2. Formulación

La etapa de formulación se encuentra sumamente ligada a la preformulación, después de haber realizado estudios de compatibilidad tanto en forma líquida como en sólida se podrá elegir una serie de excipientes con los cuales se tenga planeado formular, de acuerdo a la forma farmacéutica. Los excipientes dependiendo de la forma farmacéutica son: un sólido como en el caso de una tableta se tendrán que seleccionar diluentes, lubricantes, desintegrantes, aglutinantes, antiadherentes, tan solo por citar algunos. En el caso de un líquido como un jarabe se tendrá que elegir un agente conservador, un amortiguador de pH, cosolventes, colorantes, saborizantes, edulcorantes, etc. Si es un semisólido se buscaran bases hidrofílicas o lipofílicas, emulsificantes, conservadores, humectantes, etc. En general para la forma farmacéutica que se desarrolle se tendrá que hacer siempre por lo menos para cada categoría de excipiente la selección de tres. (2, 8).

Procedimiento de manufactura, se debe tener conocimiento de los principios de procesos farmacéuticos como son: Mezclado si es para un sólido o un líquido, tipo de mezclador, tiempo de mezclado. Molienda, reducción del tamaño de partícula para granulados que se comprimen, o materiales que se suspenden, etc. Secado

principalmente para granulados que se comprimen. Compresión, conocimiento de tipos de granulación, efecto de las condiciones de granulación, etc. Principios químicos de emulsión y suspensión, conocimiento de fenómenos de tensión superficial, balance hidrofílico-lipofílico, etc. Reología, propiedades y tipos de flujo. Filtración tipos de filtros y usos. Solo por mencionar algunas, lo importante es que se debe tener en cuenta cuales son las condiciones que pueden alterar las características del principio activo o a los mismos excipientes, un ejemplo es el conocimiento de la sensibilidad de un ingrediente activo a la humedad y el que se deba tener en cuenta para manejarlo bajo condiciones de humedad controlada. El orden de incorporación de los componentes en una formulación permitirá, en sólidos uniformidad de contenido, en líquidos solubilizar y estabilizar los componentes de la formulación. Si existe calentamiento durante un proceso de manufactura deberá haber un control sobre el mismo para evitar descomposición o cambios en las características de la forma farmacéutica.

Al finalizar esta etapa se debe contar con la siguiente información:

- 1) Fórmula cualitativa y cuantitativa. Se debe indicar claramente la descripción de cada uno de los componentes sin dejar duda de su identidad, así mismo la concentración de cada uno de ellos, en el caso de ingredientes que se deben ajustar por potencia (ejemplo vitaminas y algunos antibióticos), deben ser indicados dichos ajustes.
- 2) Procedimiento de manufactura; dividido en pasos con una secuencia lógica proporcionando equipo para cada etapa de manufactura, tiempos de mezclado, velocidad, temperaturas de calentamiento y orden de incorporación.
- 3) Especificaciones preliminares del producto a granel y terminado. Análisis físicos, químicos y microbiológicos que se deben realizar.
- 4) Controles en proceso. Ajustes realizados de pH, viscosidad, humedad, etc., durante la manufactura.
- 5) Tener una fórmula con posibilidades de optimizar. Poder modificar algún excipiente, o condiciones de proceso que mejoren las características de una formulación desarrollada.

La importancia de la formulación es crear todo el soporte técnico que mas adelante también ayude a realizar una transferencia tecnológica, tanto a la Planta Farmacéutica como a Control de Calidad. (2, 17, 19).



### 2.3. Optimización

La palabra optimizar se define como: Hacerlo tan perfecto, efectivo, o funcional como sea posible. En el caso de formulaciones farmacéuticas esto se relaciona tanto a la formulación como a su procedimiento de manufactura.

En el desarrollo de productos, generalmente se experimenta por pasos consecutivos lógicos, controlando de manera cuidadosa las variables y cambiando una sola a la vez, hasta que se produce un sistema adecuado. Manejando las diferentes variables que afectan la fórmula y/o el proceso de manufactura. (7,16, 10, 20).

Las técnicas de optimización se pueden dividir en dos grandes grupos: Optimización Clásica y Diseño Estadístico. En la optimización clásica se basa en técnicas que resultan de la aplicación del cálculo donde el problema básico es el encontrar un mínimo y un máximo de una función. El diseño estadístico se divide a su vez en diferentes técnicas:

- a) Seguimiento de Operaciones: Donde se realizan cambios mínimos a la formulación o al proceso de manufactura, pero repitiendo estos cambios, para obtener de manera estadística donde sufre modificaciones el producto.
- b) Método Simplex: Es una figura geométrica representada por un triángulo que se mueve a las condiciones óptimas, por medio de proyecciones hasta alcanzar los niveles óptimos de cada variable, la ventaja de este método es que cada punto del triángulo puede representar mas de una variable.
- c) Método de Lagrangian: Es una extensión de los métodos clásicos, tiene mucho mayor aplicación a formas farmacéuticas. Los puntos básicos de este método son: definir el objetivo de una función (ejemplo dureza, desintegración, etc. en tabletas ), determinar restricciones , definir la ecuación que resuelva todas las posibilidades para las diferentes variables.
- d) Métodos de búsqueda: En contraste con los métodos de optimización matemática, no requieren una diferenciación de funciones solo que sean computables. En este método las superficies de respuesta, se definen como ecuaciones que combinan diferentes variables independientes hasta encontrar su nivel óptimo.

2.4. Propiedades de los ingredientes activos.

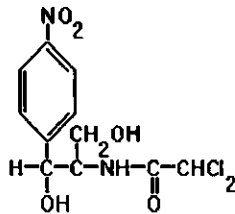
2.4.1. Cloramfenicol.

Nombre Químico: D(-)-treo-2-dicloroacetamido-1-p-nitro-fenil-1,3-propanodiol.  $C_{11} H_{12} Cl_2 N O_5$

Peso Molecular : 323.1

Fórmula desarrollada:

Figura 2.1 Fórmula Desarrollada de Cloramfenicol



Propiedades fisicoquímicas: Cristales finos de color blanco a ligeramente verdoso con un punto de fusión de 150.5° - 151.5°C. Solubilidad en agua 2.5 mg/ml, en propilenglicol 150.8 mg/ml, muy soluble en metanol, etanol. Soluciones neutras o ácidas son estables al calentamiento. (1, 3)

Estabilidad: Es uno de los antibióticos químicamente mas estables de uso común. A temperatura ambiente de un pH de 2 a 7, tiene su máxima estabilidad en 6, siendo su vida media de 3 años. La principal ruta de degradación para el cloramfenicol es una degradación hidrolítica por ruptura de la ligadura en el grupo amida. La velocidad de descomposición es de primer orden respecto al activo y es independiente respecto a la fuerza iónica del medio. Catalizadores de esta reacción son soluciones amortiguadoras presentes en el medio como el ion fosfato ácido, ácido acético no disociado y ion citrato. También presenta degradación a condiciones de luz. Los productos de degradación tornan en soluciones coloridas amarillo-naranja, en ocasiones con precipitado.

Farmacocinética: Es un antibiótico de amplio espectro al cual son sensibles algunas especies de Pseudomonas, Estafilococos aureus, Escherichia Coli y especies de Proteus, que es el principal agente causal de las infecciones en otitis externa. Dosis orales producen máximos después de 4 horas de 10 a 20 microgramos/ml y este nivel es el

mismo por una administración intravenosa. Se distribuye de manera amplia en el cuerpo, en el fluido cerebrospinal a una concentración de 50% que en la sangre. Un 90% de la dosis administrada es excretada en orina en 24 horas, conjugándose con el ácido glucurónico y un 5% se excreta de manera inalterada, un 3% del excretado en bilis es reabsorbido y 1% excretado en heces.(5, 6, 9, 11, 13).

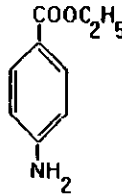
**2.4.2. Benzocaína**

Nombre Químico: Etil 4-aminobenzoato.  $C_9H_{11}NO_2$

Peso molecular: 165.19

Fórmula desarrollada:

**Figura 2.2 Fórmula Desarrollada de Benzocaína**



Propiedades fisicoquímicas: Polvo cristalino incoloro a blanco. Punto de fusión de 88 a 92°C. Solubilidad 1 en 2500 de agua, 1 en 8 de etanol, 1 en 2 de cloroformo, en ácidos minerales diluidos. (1, 3)

Estabilidad: La reacción de degradación de interés farmacéutico es la hidrólisis de la ligadura ester que da como resultado etanol y ácido para-aminobenzoico. Esta reacción es catalizada en pH básico, aunque en ocasiones también se reporta catálisis ácida. La estabilidad de la benzocaína mejora cuando el contacto con agua se reduce así como también la presencia de ácidos o bases. La estabilidad y solubilidad de benzocaína, mejora cuando se combina con cafeína, beta-ciclodextrinas y algunos surfactantes. Los preparados farmacéuticos se limitan a presentaciones sólidas o semisólidas, aunque también los preparados líquidos con un mínimo o nada de agua son posibles.

Farmacocinética: La benzocaína es un anestésico local del tipo ester con baja toxicidad sistémica. Es usado en combinación con otros principios activos tales como analgésicos, conservadores, antibacteriales donde se requiere de una disminución temporal del dolor; casos como cortaduras leves, quemaduras de sol, dolor de oído, etc. El nivel de absorción es mínimo, la cantidad absorbida es metabolizada en el hígado. Estudios metabólicos revelan

también que enzimas en plasma y tejidos, hidrolizan rápidamente la benzocaina. El ácido para-aminobenzoico es encontrado en concentraciones séricas 10 minutos después de una administración oral, encontrando que los niveles de benzocaina intacta son mínimos.(5, 6, 9, 11, 14)

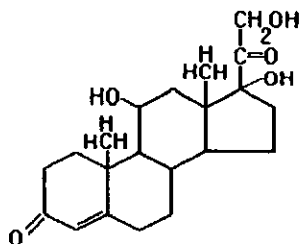
### 2.4.3. Hidrocortisona.

Nombre Químico: 11beta, 17alfa, 21-trihidroxipreg-4-ene-3,20-diona.  $C_{21}H_{30}O_5$

Peso molecular: 362.50.

Fórmula desarrollada:

Figura 2.3 Fórmula Desarrollada de Hidrocortisona



Propiedades fisicoquímicas: Polvo blanco cristalino. Punto de fusión de 214°C con descomposición . Una solución en dioxano es dextro-rotatoria. Prácticamente insoluble en agua , la solubilidad en agua se puede llevar a cabo con la incorporación de algunos surfactantes como tween 20. en etanol su solubilidad es del 2.5%, en acetona es del 1.25% y en propilenglicol del 1.0%. La solubilización de hidrocortisona y otros esteroides se a llevado a cabo en surfactantes de polioxietileno así como de esteres ácidos grasos de polietilenglicol. (1, 3)

Estabilidad: Es muy estable en estado sólido. En soluciones acuosas y alcohólicas, la cadena del lado dihidroxiacetona como en todos los corticoesteroides sufre un rearrreglo oxidativo y degradación esto ocurre a pH muy ácidos y básicos. Se ha estudiado descomposición de hidrocortisona que reacciona de manera espontánea en soluciones acuosas produciendo el 21-dehidrocortisol. a pH=9 en buffer de carbonatos. Incorporación de EDTA o las proteínas del plasma también disminuyen la degradación. La degradación fotolítica de la hidrocortisona

expuesta a luz fluorescente se encontró que es de primer orden. La vida media de una solución acuosa se encontró que era de 160 días.

**Farmacocinética:** Es el principal glucocorticoide secretado por la corteza adrenal. Una administración oral tiene una vida media de 90 minutos, cuando se determina en plasma. Se absorbe rápidamente en tracto gastrointestinal, por inyección intramuscular se absorbe mas lento. Se puede absorber a través de piel. Se metaboliza en hígado y tejidos a la forma hidrogenada degradada como lo son la tetrahydrocortisona y el hidrocortisol, estos son excretados en orina conjugado con glucurónidos y en una pequeña cantidad como hidrocortisona sin modificación. (5, 6, 9, 11, 15)

## **2.5 Agentes conservadores**

Debido a las diferentes fuentes de contaminación microbiológica que existen que van desde las materias primas, contenedores y equipo de proceso, medio ambiente donde se fabrica, operadores, materiales de empaque y el propio usuario del producto, es necesario la utilización de conservadores. El conservador debe tener las siguientes características:

- 1) Debe ser efectivo contra un amplio espectro de microorganismos.
- 2) Debe tener estabilidad física, química y microbiológica, durante el periodo de vida del producto.
- 3) No debe ser tóxico, no producir reacciones de sensibilización, solubilidad adecuada, compatible con los componentes de la formulación, y aceptable respecto a las características de sabor y olor en las concentraciones utilizadas.

Los agentes conservadores utilizados se dividen en cuatro grupos:

- a) **Ácidos:** fenol, clorocresol, ácidos parahidroxibenzoicos (como metil y propil), ácido benzoico y sus sales, ácido sórbico y sus sales. De este grupo los ácidos parahidroxibenzoicos son los más utilizados y los derivados del ácido benzoico y sórbico que tienen propiedades antimicrobianas y antifúngicas.
- b) **Neutros:** Clorobutanol, Alcohol bencílico y alcohol  $\beta$ -fenil-etil. El problema principal es que son alcoholes volátiles e introducen olor al producto y pérdida del efecto conservador.

c) Mercuriales; Timerosal, Acetato y Nitrato de fenilmercurio, Nitronmersol. Son excelentes conservadores pero se debe tener cuidado en su elección debido a la inactivación que sufren por la presencia de sustancias aniónicas.

d) Compuestos Cuaternarios de Amonio; Cloruro de benzalconio y cloruro de cetilpiridinio, estos junto con los mercuriales y los neutros son los más utilizados para preparados oftálmicos, nasales y óticos, aunque también se debe tener cuidado en su elección por la inactivación que sufren por compuestos aniónicos. (2, 7, 9)

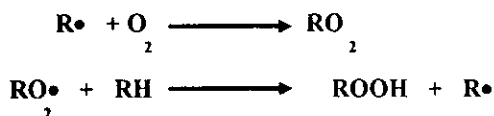
## 2.6 Antioxidantes

Cuando un sistema posee un elevado potencial de oxidación pueden ser incorporados materiales que lo disminuyan. Los mecanismos de oxidación pueden suceder por la presencia de radicales libres o por oxígeno molecular. En el caso de la formación de radicales libres son estructuras sumamente inestables que toman electrones de otras sustancias que puede ser la misma sustancia, a esto se le denomina autoxidación, este mecanismo se desarrolla en varias etapas:

1) Iniciación

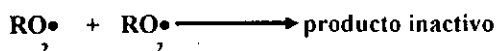


2) Propagación



3) Descomposición peróxido  $\text{ROOH} \longrightarrow \text{RO}\bullet + \text{OH}\bullet$

4) Terminación  $\text{RO}_2\bullet + \text{X} \longrightarrow \text{producto inactivo}$



La iniciación puede ser producida por una descomposición térmica de la sustancia, o por efecto de luz, generalmente un radical libre es eliminado por otro radical libre. La presencia de algunas trazas de metales como hierro, cobalto y níquel reducen el tiempo de la reacción de iniciación, acelerando la oxidación. Los antioxidantes

solubles en agua sustituyen al principio activo en la oxidación ejemplo de estos son bisulfito de sodio, formaldehído sulfoxilato de sodio, tiosulfato de sodio, en el caso de los antioxidantes solubles en aceite funcionan como radicales libres aceptores ejemplo son palmitato de ascorbilo, galacto de propilo, butilhidroxi-anisol. (2, 7, 8)

Un antioxidante puede también mejorar su actividad por la presencia de un sinergista, como lo son agentes quelantes, que forma complejos con metales ejemplos son ácido etilendiaminotetraacético, ácido cítrico, ácido tartárico, dihidroxietyl glicina.

La presencia de sales para amortiguar el pH puede ocasionar que las reacciones de oxidación se incrementen, así como también la presencia de agua en algunos casos puede catalizar este tipo de degradación (23, 24).

## 2.7. Otitis Externa.

Se define como la inflamación de la piel que recubre el canal auditivo externo por la presencia de una infección. El canal auditivo externo es considerado como un canal tapado forrado con piel. Es oscuro, y un lugar apropiado para la acumulación de humedad. La prolongada exposición a humedad provoca la ruptura continua de las células epiteliales favoreciendo el crecimiento de bacterias, además el incremento de pH cuyo valor normal es de 5 a 7 en esta región del oído. Otros factores contribuyen para la susceptibilidad: edad, raza, clima y la ocupación. Los microorganismo más comunes que producen las otitis incluye algunas especies de Estafilococos, Pseudomonas, Bacillus y Proteus. Los hongos en ocasiones son microorganismos causales. La inflamación produce un edema provocando dolor, que durante la masticación puede ser mayor. La limpieza del oído con diferentes objetos (algodón, pasadores, etc.), pueden traumatizar la capa de la piel provocando que se introduzcan microorganismos. Un canal auditivo externo saludable es impermeable a la invasión de microorganismos.

Si la infección progresa y no se controla se puede llegar a producir destrucción de la membrana timpánica, con perforación e infección en el oído medio con un dolor intenso.(6, 11)

## 2.8. Preparados Oícos.

Antes de llevar a cabo cualquier aplicación de medicamento es importante que el canal auditivo sea limpiado, tomando los cuidados necesarios para no traumatizar la piel del canal externo. La succión es el método de limpieza recomendado. Irrigación con alcohol al 70%, solución salina, o en mezcla con peróxido de hidrógeno ayudan a retirar la "cerilla" o cerumen. Los principios activos administrados son disueltos o suspendidos en un vehículo apropiado, aunque polvos y semisólidos algunas veces también son administrados. Desde la aplicación de los más sencillos como es: Aceite para bebé, cuando existe comezón. Cuando ya se sospecha de ataque microbiológico se recomienda: Acido acético del 2 al 5%, ya que inhibe el crecimiento de bacterias. Cuando la infección está mas avanzada se recomienda un antibiótico además de un corticosteroide para disminuir la inflamación. Solamente en los casos donde se compruebe que existe una complicación, la penicilina es lo más recomendado. En general los productos óicos se componen de: (2, 6).

- 1.- El principio activo; antibiótico y/o un antiinflamatorio y/o un anestésico local.
- 2.- Vehículo; que puede ser agua o cualquier otro solvente que permita la dosificación.
- 3.- Conservador; que asegure la integridad microbiológica de la fórmula desde su manufactura hasta su utilización.
- 4.- Agentes solubilizantes, humectantes o emulsificantes; cuando el principio activo sea de difícil solubilización o cuando el preparado sea una suspensión o semisólido.
- 5.- Soluciones reguladoras de pH; si la fórmula requiere de un sistema para controlar su pH.
- 6.- Estabilizadores; como antioxidantes o agentes sinergistas (como E.D.T.A. disódico) que mejoran la estabilidad de los preparados

En el caso de ser pacientes diabéticos requieren de especial atención, pueden desarrollar una otitis externa maligna o necrotizante. Las otitis producidas por hongos, otomicosis son raras, estas se pueden tratar con alcohol, propilenglicol, glicerina o agua acidificada.

La elección del producto va a depender de la disponibilidad y las recomendaciones del médico, debiendo tener cuidado, los casos mas severos pueden dar como resultado la pérdida permanente de capacidad auditiva.



### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los problemas de dolor en oído son comunes sobre todo en la población adulta, originados por un mal funcionamiento de algunas de las partes del oído, obstrucción del canal auricular o también es el resultado de enfermedades en cuello, lengua, mandíbulas, etc. Estos síntomas pueden ser producidos por una otitis externa u otitis media.

Para combatir afecciones del oído producidas por una otitis externa se desarrolla una solución ótica, donde infección e inflamación en oído son las principales características de esta enfermedad. También será útil para combatir otitis media por su efecto antiinflamatorio y anestésico.

Los principios activos con los que se desarrolla la fórmula son:

- Cloramfenicol. Antibiótico de amplio espectro, bacteriostático.
- Hidrocortisona. Esteroide que tiene un efecto antiinflamatorio.
- Benzocaína. Anestésico local.

Además de lograr incorporar un agente conservador. Para llevar a cabo el desarrollo de esta solución ótica se plantea la necesidad de realizar estudios de Preformulación y Formulación; esto asegurará estabilidad física y química. Con el efecto farmacológico descrito para cada ingrediente activo.

Las ventajas de contar con una fórmula de estas características permiten una administración tópica, de efecto rápido, porque se aplica directamente en el oído. Los efectos por absorción sistémicos no existen por ser una vía de administración por la cual no se lleva a cabo una absorción.

Para mayor seguridad de que la formulación obtenida es adecuada se realizará una etapa de Optimización donde se efectuara una evaluación cuantitativa con un método analítico validado, específico para estabilidad para cada uno de los principios activos.

#### **4. OBJETIVOS**

##### **4.1. General**

Aplicar la metodología de Preformulación, Formulación y Optimización en el desarrollo de una solución ótica, que contenga Benzocaína, Cloramfenicol e Hidrocortisona.

##### **4.2. Particulares**

###### **A. Preformulación**

- 1.- Realizar los estudios de caracterización para cada uno de los principios activos.
- 2.- Realizar compatibilidad entre los principios activos solos , como mezclas y con excipientes.

###### **B. Formulación**

- 1.- Seleccionar un disolvente. como vehiculo de la fórmula.
- 2.- Seleccionar un agente conservador.
- 3.- Seleccionar un agente antioxidante.
- 4.- Proponer formulaciones.
- 5.- Diseñar pruebas de evaluación fisicoquímicas que ayuden a elegir la fórmula más adecuada.

###### **C. Optimización**

- 1.- Utilizar una evaluación analítica para determinar la degradación de cada uno de los principios activos.
- 2.- Aplicar el Diseño Estadístico por medio del Análisis de Varianza para evaluar el efecto de estabilización.

## **5. HIPOTESIS DE TRABAJO**

Con el desarrollo de pruebas de evaluación en cada una de las etapas de Preformulación, Formulación y Optimización, se obtendrá la fórmula de una solución ótica con Benzocaina, Cloramfenicol e Hidrocortisona con estabilidad física, química y microbiológica útil en el tratamiento de otitis externa y otitis media.

**6. PARTE EXPERIMENTAL**

**6.1 Materiales**

- a) Vaso de precipitado marca Pyrex de 50, 100, 200 y 500 ml.
- b) Tubos de ensayo marca Pyrex de 10 ml.
- c) Gradilla metálica.
- d) Matraces volumétricos marca Pyrex de 25 y 50 ml.
- e) Pipetas volumétricas marca Pyrex de 2 y 5 ml.
- f) Frascos gotero de polietileno pigmentado de alta densidad con tapa y retapa.

**6.3.1 Materias primas**

- Benzocaína (G.F.)\*
- Hidrocortisona (G.F.)
- Cloramfenicol (G.F.)
- Propilenglicol (G.F.)
- Glicerina (G.F.)
- Polietilenglicol E-400 (G.F.)
- Sorbitol 70% (G.F.)
- Alcohol etílico 96%(G.F.)
- Timerosal (G.F.)
- Cloruro de benzalconio (G.F.)
- Cloruro de metilbencetonio (G.F.)

\* Grado farmacéutico

\*\* Disolvente para cromatografía de líquidos

**6.2.1 Equipos**

- a) Estufa de estabilidad de 45°C, marca J.M. Ortíz.
- b) Parrilla de agitación y calentamiento marca Thermolyne Multi-Stir Plate "4".
- c) Agitador eléctrico marca Thermolyne.

**6.2.2 Instrumentos**

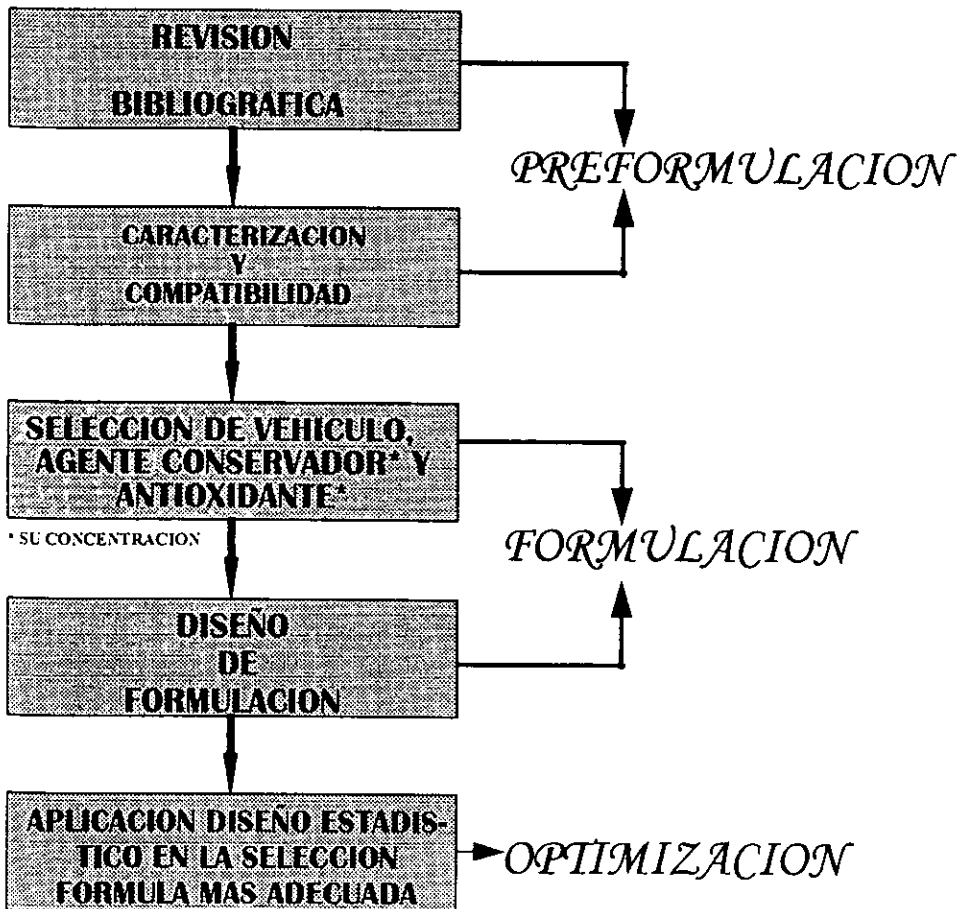
- a) Potenciometro marca Beckman 40 pH Meter.
- b) Cromatógrafo de líquidos marca Waters, Modelo 440.
- c) Balanza electrónica marca Mettler Modelo AM 100.

**6.3.2 Disolventes para análisis**

- Alcohol etílico (grado reactivo)
- Acido clorhídrico (grado reactivo)
- Dimetilformamida (H.P.L.C.)\*\*
- Acetonitrilo (H. P. L. C.)

6.4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

6.4.1. Diagrama de flujo



**6.5. PROCEDIMIENTO METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

**6.5.1. Preformulación.**

Después de haber realizado la revisión bibliográfica se procedió a complementar información para cada uno de los ingredientes activos, principalmente en lo que se refiere a solubilidad, eligiendo los siguientes disolventes y mezclando de la siguiente manera:

**TABLA 6.1. Pruebas de solubilidad para cada uno de los activos y sus diferentes combinaciones.**

PRUEBA	DISOLVENTE				
	disolvente 1	disolvente 2	disolvente 3	disolvente 4	disolvente 5
Benzocaína	PBA 1 B	PBA 2 B	PBA 3 B	PBA 4 B	PBA 5 B
Cloramfenicol	PBA 1 C	PBA 2 C	PBA 3 C	PBA 4 C	PBA 5 C
Hidrocortisona	PBA 1 H	PBA 2 H	PBA 3 H	PBA 4 H	PBA 5 H
Benzocaína / Cloramfenicol	PBA 1 BC	PBA 2 BC	PBA 3 BC	PBA 4 BC	PBA 5 BC
Benzocaína / Hidrocortisona	PBA 1 BH	PBA 2 BH	PBA 3 BH	PBA 4 BH	PBA 5 BH
Cloramfenicol / Hidrocortisona	PBA 1 CH	PBA 2 CH	PBA 3 CH	PBA 4 CH	PBA 5 CH
Benzocaína/Cloramfenicol/Hidrocortisona	PBA 1 BCH	PBA 2 BCH	PBA 3 BCH	PBA 4 BCH	PBA 5 BCH

Nota: PBA= prueba, B=Benzocaína, C=Cloramfenicol, H=Hidrocortisona

Todas estas pruebas fueron preparadas a las siguientes concentraciones:

- Benzocaína                    2.00 g/100 ml
- Cloramfenicol                2.50 g/100 ml
- Hidrocortisona               1.00 g/100 ml

Después de preparar cada prueba (siete para cada disolvente), a todas se les determina pH, pero como el contenido de agua era muy poco se realiza esta medición diluyendo con agua (1:1), dando el mismo tratamiento a

cada muestra. El pH tomado de manera directa no se estabiliza. Se acondicionaron en frascos de polietileno de alta densidad pigmentado color blanco. Una parte de estos frascos se someten a 45°C. el resto a temperatura ambiente. se revisaron a los 15 días, 30 días y 45 días. se evalua después de este periodo de tiempo: apariencia y pH.

De esta manera se seleccionaron dos disolventes que resultaron ser los mas adecuados para después realizar la selección del agente conservador. de la siguiente manera:

**TABLA 6.2. Pruebas para la selección de un agente conservador.**

PRUEBA	conservador I		conservador II		conservador III	
	disolvente 1	disolvente 3	disolvente 1	disolvente 3	disolvente 1	disolvente 3
Benzocaina	PBA 1 B I	PBA 3 B I	PBA 1 B II	PBA 3 B II	PBA 1 B III	PBA 3 B III
Cloramfenicol	PBA 1 C I	PBA 3 C I	PBA 1 C II	PBA 3 C II	PBA 1 C III	PBA 3 C III
Hidrocortisona	PBA 1 H I	PBA 3 H I	PBA 1 H II	PBA 3 H II	PBA 1 H III	PBA 3 H III
Benzocaina / Cloramfenicol	PBA 1 BC I	PBA 3 BC I	PBA 1 BC II	PBA 3 BC II	PBA 1 BC III	PBA 3 BC III
Benzocaina / Hidrocortisona	PBA 1 BH I	PBA 3 BH I	PBA 1 BH II	PBA 3 BH II	PBA 1 BH III	PBA 3 BH III
Cloramfenicol / Hidrocortisona	PBA 1 CH I	PBA 3 CH I	PBA 1 CH II	PBA 3 CH II	PBA 1 CH III	PBA 3 CH III
Benzocaina / Cloramfenicol / Hidrocortisona	PBA 1 BCH I	PBA 3 BCH I	PBA 1 BCH II	PBA 3 BCH II	PBA 1 BCH III	PBA 3 BCH III

Nota: PBA= prueba, B=Benzocaina, C=Cloramfenicol, H=Hidrocortisona

Estas pruebas se prepararon. se les midió su pH en dilución con agua (1:1) y se describió su apariencia. Se acondicionaron en frascos de polietileno de alta densidad. Una parte se sometieron a 45°C y el resto se conservó a

temperatura ambiente. Se realizó determinación de apariencia física y pH a los 15, 30 y 45 días. Al final de esta etapa se seleccionó el conservador I con cualquiera de los dos disolventes.

### 6.5.2. Formulación

Se elaboraron las siguientes formulaciones tipo, que se muestran a continuación:

**TABLA 6.3. Fórmulas tipo con diferente vehículo**

Formula A		Formula B	
1. Benzocaina	2.00 g	1. Benzocaina	2.00 g
2. Cloramfenicol	2.50 g	2. Cloramfenicol	2.50 g
3. Hidrocortisona	1.00 g	3. Hidrocortisona	1.00 g
4. conservador I	0.100 g	4. conservador I	0.10 g
5. disolvente 3 c.b.p.	100.00 ml	5. disolvente I c.b.p.	100.00 ml

A estas fórmulas se les incorpora un agente que mejore la estabilidad, pensando que bloqueando los mecanismos de oxidación se aumenta la estabilidad, se relizan las siguientes pruebas:

**TABLA 6.4. Selección de un agente antioxidante**

AGENTE ESTABILIZANTE	FORMULA "A"	FORMULA "B"
blanco (*)	PRUEBA 1	PRUEBA 2
antioxidante I	PRUEBA 3	PRUEBA 4
antioxidante II	PRUEBA 5	PRUEBA 6

(\*) En este caso blanco se refiere a la formula sin ningún agente estabilizante.

Estas fórmulas después de fabricarse se determina su pH. Se acondicionaron en frascos de polietileno de alta densidad pigmentados de color blanco y se someten a 45°C. otra parte se mantuvo a temperatura ambiente. Se evaluan a los 30, 45, y 60 días. De estas pruebas se selecciona la PRUEBA 5.



**Procedimiento de manufactura.**

El procedimiento de manufactura para cualquiera de las dos formulaciones A o B con antioxidante se describe a continuación:

- 1.- Calentar el 70% del disolvente de 55°C a 60°C y disolver con agitación continua: Conservador I, Antioxidante e Hidrocortisona.
- 2.- Enfriar de 40°C a 45°C y disolver con agitación: Cloramfenicol e Hidrocortisona.
- 3.- Llevar a volumen con el disolvente y mezclar 10 minutos más.

**6.5.3. Optimización**

Seleccionada la PRUEBA 5, se procede a su optimización variando la concentración de antioxidante II y se evalúa en diferentes tiempos: uno, dos y tres meses, considerando que se tiene una solución, en la siguiente tabla se presenta la matriz experimental para evaluar el efecto del antioxidante:

**TABLA 6.5. Esquema de optimización para la fórmula con antioxidante II**

	sin antioxidante	antioxidante II concentración 1	antioxidante II concentración 2
REPETICION 1	FORMULA A-1-1	FORMULA A-1-2	FORMULA A-1-3
REPETICION 2	FORMULA A-2-1	FORMULA A-2-2	FORMULA A-2-3
REPETICION 3	FORMULA A-3-1	FORMULA A-3-2	FORMULA A-3-3

Esta evaluación se realiza con una técnica analítica de cromatografía de líquidos validada siendo un método analítico específico para estabilidad. En el Apéndice "A", se dan los resultados de la validación. De estos resultados se procede a realizar el análisis estadístico de los mismos con lo que concluyó el proyecto, en el Apéndice "B", se presenta el modelo estadístico empleado.

7. RESULTADOS

7.1. Preformulación

Los resultados para la etapa de preformulación se muestran a continuación, para cada uno de los disolventes por separado.

TABLA 7.1. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1.

PRUEBA	INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH
BENZOCAINA	2	5.00	2	4.80	2	4.75	2	4.70
CLORAMFENICOL	2	4.50	2	5.20	2	5.35	2	5.25
HIDROCORTISONA	1	6.50	1	6.30	1	6.45	1	6.67
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL	2	5.68	3	5.80	4	6.07	4	6.37
BENZOCAINA- HIDROCORTISONA	2	5.70	3	5.66	4	4.95	4	4.80
CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	6.70	3	6.55	4	6.31	5	6.22
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	6.85	3	6.80	4	5.73	6	5.65

(\*) DESCRIPCION PARA APARIENCIA:

- 1: LIQUIDO TRASPARENTE INCOLORO, SIN PRECIPITADO
- 2: LIQUIDO LIGERAMENTE AMARILLO, SIN PRECIPITADO
- 3: LIQUIDO AMARILLENTO, SIN PRECIPITADO
- 4: LIQUIDO AMARILLO CLARO, SIN PRECIPITADO
- 5: LIQUIDO AMARILLO, SIN PRECIPITADO
- 6: LIQUIDO AMARILLO INTENSO, SIN PRECIPITADO
- 7: LIQUIDO AMARILLO LIGERAMENTE AMBAR, SIN PRECIPITADO
- 8: LIQUIDO AMBAR, SIN PRECIPITADO.
- 9: LIQUIDO AMBAR MUY INTENSO, SIN PRECIPITADO

- 1-1: LIQUIDO TRANSPARENTE INCOLORO, CON PRECIPITADO.
- 2-2: LIQUIDO LIGERAMENTE AMARILLO, CON PRECIPITADO.
- 3-3: LIQUIDO AMARILLENTO, CON PRECIPITADO
- 4-4: LIQUIDO AMARILLO CLARO, CON PRECIPITADO.
- 5-5: LIQUIDO AMARILLO, CON PRECIPITADO
- 6-6: LIQUIDO AMARILLO INTENSO, CON PRECIPITADO
- 7-7: LIQUIDO AMARILLO LIG AMBAR, CON PRECIPITADO
- 8-8: LIQUIDO AMBAR, CON PRECIPITADO
- 9-9: LIQUIDO AMBAR MUY INTENSO, CON PRECIPITADO

TABLA 7.2. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 2.

PRUEBA	INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH
BENZOCAINA	2	5.31	2	5.45	2	5.71	2	5.69
CLORAMFENICOL	2	5.09	2	5.32	2	5.31	3	5.86
HIDROCORTISONA	1	6.04	1	5.83	1	5.52	1	5.43
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL	2	5.87	3	5.66	4	5.32	6	5.45
BENZOCAINA- HIDROCORTISONA	2	5.90	3	6.03	4	6.22	5	5.21
CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	6.21	3	5.87	4	6.31	5	6.12
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	6.38	4	6.01	5-5	6.11	6-6	5.56

TABLA 7.3. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3.

PRUEBA	INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH
BENZOCAINA	2	5.60	2	5.53	2	5.43	2	5.39
CLORAMFENICOL	2	5.69	2	5.73	2	5.81	2	5.93
HIDROCORTISONA	1	5.45	1	5.63	1	5.51	1	5.43
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL	2	6.03	3	6.63	3	6.87	3	6.85
BENZOCAINA- HIDROCORTISONA	2	5.48	3	5.32	3	5.35	3	5.21
CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	5.08	3	5.11	4	4.93	5	4.85
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	5.93	3	6.03	4	6.21	6	6.43

**TABLA 7.4. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 4.**

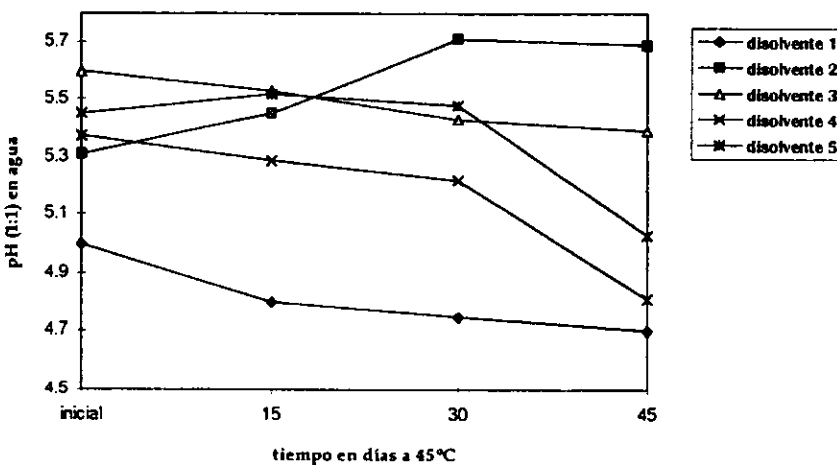
PRUEBA	INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH
BENZOCAINA	2	5.37	2	5.29	2	5.22	2	4.81
CLORAMFENICOL	2	5.21	3	4.89	4	4.53	5	3.97
HIDROCORTISONA	1	6.29	1	6.25	1	6.17	1-1	6.05
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL	2	5.89	3	4.73	4	4.07	7	3.78
BENZOCAINA- HIDROCORTISONA	2	5.37	3	5.08	5	4.89	6-6	4.21
CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	5.45	4	5.39	6	5.48	7-7	5.06
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	5.53	4	5.01	7	4.29	8-8	3.53

**TABLA 7.5. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 5.**

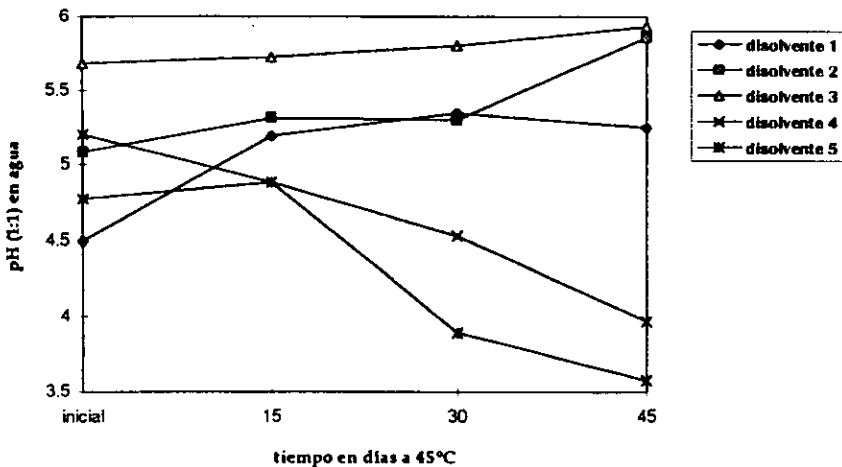
PRUEBA	INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH	APARIENCIA (°)	pH
BENZOCAINA	2	5.45	2	5.52	2	5.48	3	5.03
CLORAMFENICOL	2	4.78	3	4.89	4	3.89	5	3.58
HIDROCORTISONA	1	6.01	1	6.21	2	5.89	2	5.21
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL	2	5.87	3	5.58	4	5.22	5	4.78
BENZOCAINA- HIDROCORTISONA	2	5.39	3	5.25	4	4.89	5	4.57
CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	5.58	3	5.41	5	4.97	8	4.87
BENZOCAINA- CLORAMFENICOL- HIDROCORTISONA	2	5.87	5	5.18	7	4.31	9	3.32

A continuación se presentan las gráficas de variación de pH para cada una de las pruebas comparadas con los diferentes disolventes utilizados.

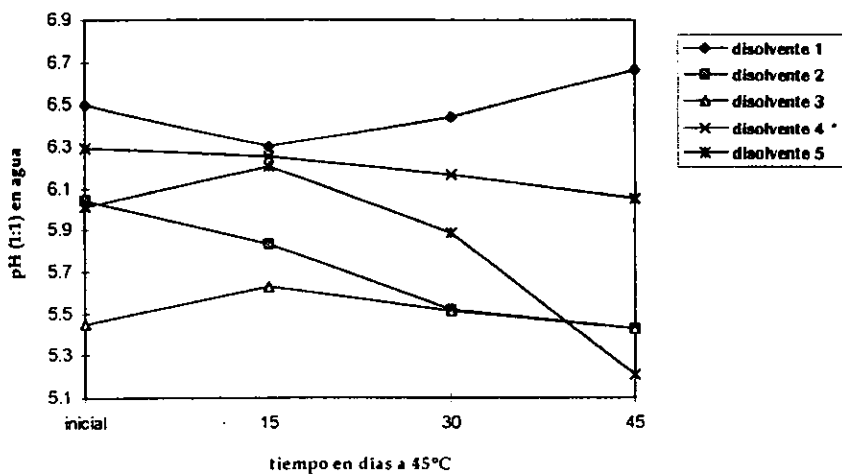
**GRAFICA 7.1 Variación de pH para Benzocaína en diferentes disolventes**



**GRAFICA 7.2 Variación de pH para Cloramfenicol en diferentes disolventes**

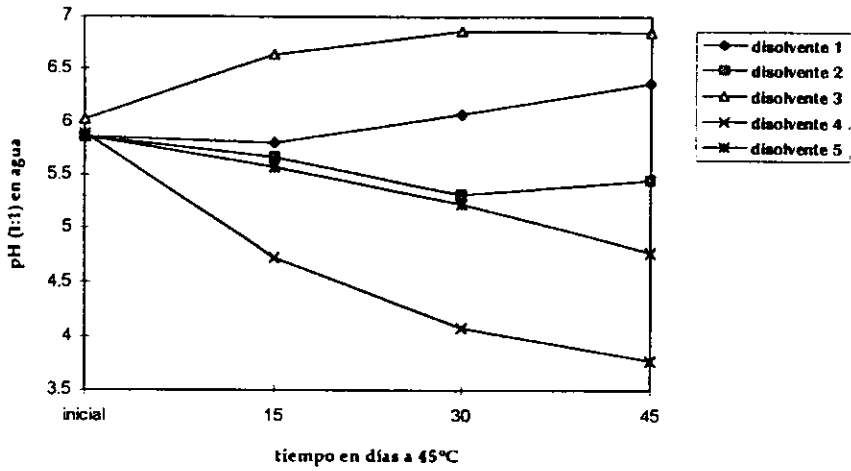


**GRAFICA 7.3 Variación de pH para Hidrocortisona en diferentes disolventes**

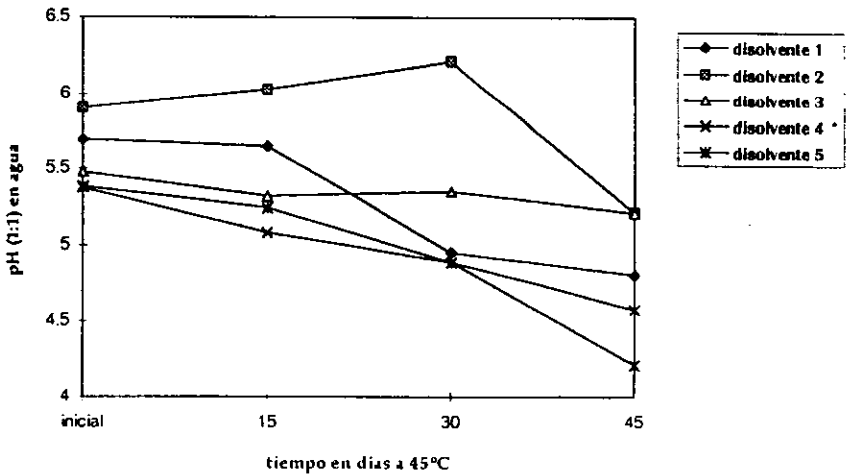


\* Ocurre precipitación

**GRAFICA 7.4 Variación de pH para mezclas Benzocaína-Cloramfenicol en diferentes disolventes**

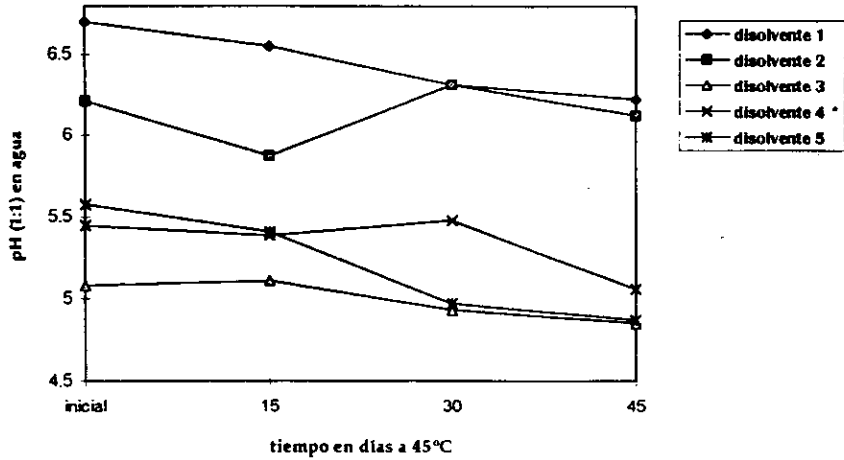


**GRAFICA 7.5 Variación de pH para mezclas Benzocaína-Hidroocortisona en diferentes disolventes**



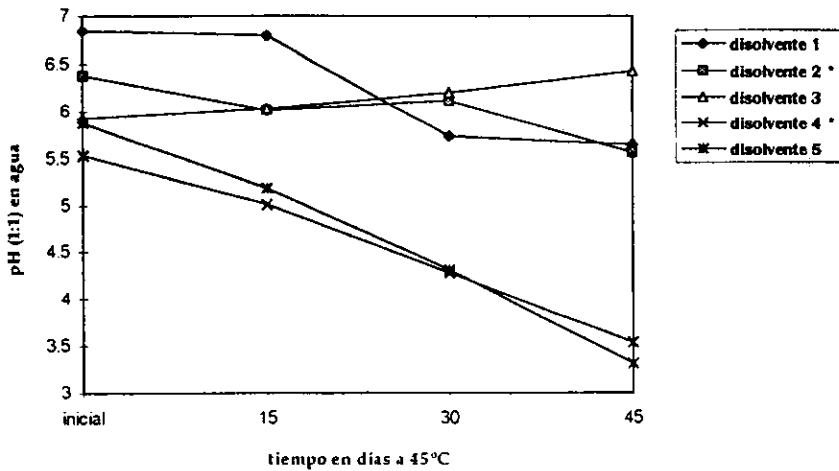
\* Ocurre precipitación

**GRAFICA 7.6 Variación de pH para mezclas Cloramfenicol-Hidroclortisona en diferentes disolventes**



\* Ocurre precipitación

**GRAFICA 7.7 Variación de pH para mezclas Benzocaína-Cloramfenicol-Hidroclortisona en diferentes disolventes**



\* Ocurre precipitación



De esta pruebas fueron seleccionados dos disolventes el disolvente 1 y el disolvente 3. para continuar con la selección del agente conservador. Los resultados se presentan a continuación:

**TABLA 7.6. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1 para conservador L.**

PRUEBA		TIEMPO							
		INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
		APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH
CONSERVADOR 1	BENZOCAINA	2	6.03	2	6.49	2	6.32	2	6.43
	CLORAMFENICOL	2	6.32	2	6.03	2	6.52	2	6.83
	HIDROCORTISONA	1	6.70	1	6.81	1	6.43	1	6.57
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL	2	6.23	3	5.89	4	6.03	4	6.48
	BENZOCAINA HIDROCORTISONA	2	6.45	3	6.39	4	6.45	5	6.31
	CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.87	3	6.58	4	6.23	5	5.89
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.45	3	6.03	4	5.98	6	5.58

**(\*) DESCRIPCION PARA APARIENCIA:**

- 1: LIQUIDO TRASPARENTE INCOLORO, SIN PRECIPITADO
- 2: LIQUIDO LIGERAMENTE AMARILLO, SIN PRECIPITADO
- 3: LIQUIDO AMARILLENTO, SIN PRECIPITADO
- 4: LIQUIDO AMARILLO CLARO, SIN PRECIPITADO
- 5: LIQUIDO AMARILLO, SIN PRECIPITADO
- 6: LIQUIDO AMARILLO INTENSO, SIN PRECIPITADO
- 7: LIQUIDO AMARILLO LIGERAMENTE AMBAR, SIN PRECIPITADO
- 8: LIQUIDO AMBAR, SIN PRECIPITADO
- 9: LIQUIDO AMBAR MUY INTENSO, SIN PRECIPITADO

- 1-1: LIQUIDO TRASPARENTE INCOLORO, CON PRECIPITADO.
- 2-2: LIQUIDO LIGERAMENTE AMARILLO, CON PRECIPITADO.
- 3-3: LIQUIDO AMARILLENTO, CON PRECIPITADO.
- 4-4: LIQUIDO AMARILLO CLARO, CON PRECIPITADO.
- 5-5: LIQUIDO AMARILLO, CON PRECIPITADO.
- 6-6: LIQUIDO AMARILLO INTENSO, CON PRECIPITADO
- 7-7: LIQUIDO AMARILLO LIG. AMBAR, CON PRECIPITADO
- 8-8: LIQUIDO AMBAR, CON PRECIPITADO.
- 9-9: LIQUIDO AMBAR MUY INTENSO, CON PRECIPITADO

**TABLA 7.7. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3 para conservador I**

PRUEBA		TIEMPO							
		INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
		APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH
CONSERVA- DOR I	BENZOCAINA	2	6.63	2	6.71	2	6.63	2	6.87
	CLORAMFENICOL	2	6.58	2	6.38	2	6.54	2	6.31
	HIDROCORTISONA	1	6.85	1	6.53	1	6.52	1	6.45
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL	2	6.32	3	6.63	4	6.22	4	6.43
	BENZOCAINA HIDROCORTISONA	2	6.59	3	6.32	4	6.78	5	6.51
	CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.86	3	6.71	4	6.54	5	6.39
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.71	3	6.93	4	6.54	5	6.43

**TABLA 7.8. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1 para conservador II**

PRUEBA		TIEMPO							
		INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
		APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH
CONSERVA- DOR II	BENZOCAINA	2	5.87	2	5.62	3	5.43	4	5.12
	CLORAMFENICOL	2	5.93	2	5.87	3	5.43	4	4.83
	HIDROCORTISONA	1	6.03	1	5.89	1	5.35	3	4.23
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL	2	6.22	3	5.89	4-4	5.23	5-5	4.87
	BENZOCAINA HIDROCORTISONA	2	6.33	3	5.53	4-4	4.52	5-5	4.32
	CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.01	3	5.22	4-4	4.78	5-5	4.19
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	5.89	3	5.21	4-4	4.87	6-6	4.31

**TABLA 7.9. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3 para conservador II**

PRUEBA		TIEMPO							
		INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
		APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH
CONSERVA- DOR II	BENZOCAINA	2	5.93	2	5.73	2	5.87	4	5.89
	CLORAMFENICOL	2	6.03	2	5.86	2	5.73	4	5.61
	HIDROCORTISONA	1	6.21	1	5.88	1	5.43	3	5.43
	BENZOCAINA	2	6.12	3	6.03	3-3	5.87	4-4	5.88
	CLORAMFENICOL	2	6.21	3	6.07	3-3	6.56	4-4	5.37
	HIDROCORTISONA	2	6.42	3	6.23	3-3	5.83	4-4	5.29
	CLORAMFENICOL	2	6.42	3	6.23	3-3	5.83	4-4	5.29
	HIDROCORTISONA	2	6.33	3	6.18	4-4	5.89	5-5	5.39

**TABLA 7.10. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 1 para conservador III**

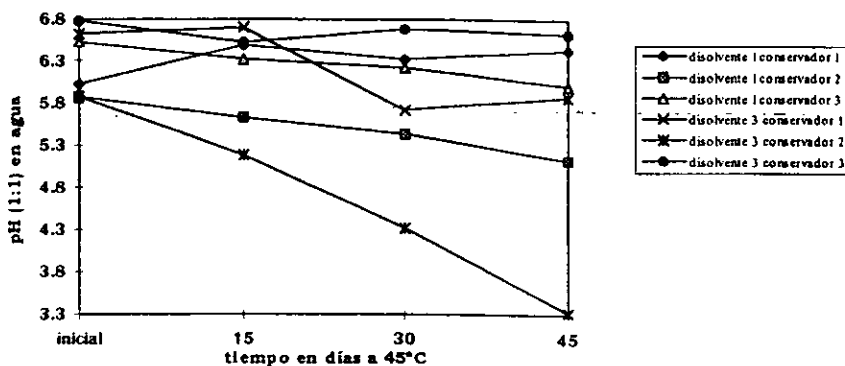
PRUEBA		TIEMPO							
		INICIAL		15 DIAS 45°C		30 DIAS 45°C		45 DIAS 45°C	
		APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH
CONSERVA- DOR III	BENZOCAINA	2	6.53	2	6.31	2	6.22	2	6.02
	CLORAMFENICOL	2	6.73	2	6.54	2	6.39	2	6.18
	HIDROCORTISONA	1	6.32	1	6.67	1	6.54	1	6.31
	BENZOCAINA	2	6.78	3	6.52	4	6.43	5	6.13
	CLORAMFENICOL	2	6.58	3	5.97	4	6.00	5	5.93
	HIDROCORTISONA	2	6.45	3	6.32	4	5.93	5	5.79
	CLORAMFENICOL	2	6.45	3	6.32	4	5.93	5	5.79
	HIDROCORTISONA	2	6.57	4	6.73	5-5	6.75	6-6	5.89

**TABLA 7.11. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas en disolvente 3 para conservador III**

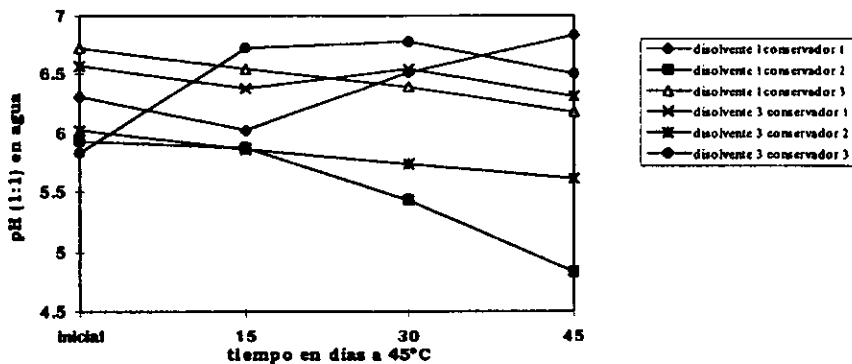
PRUEBA		TIEMPO							
		INICIAL		15 DÍAS 45°C		30 DÍAS 45°C		45 DÍAS 45°C	
		APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH	APARIENCIA	pH
CONSERVA- DOR III	BENZOCAINA	2	6.78	2	6.54	2	6.69	2	6.63
	CLORAMFENICOL	2	6.84	2	6.73	2	6.78	2	6.51
	HIDROCORTISONA	1	6.93	1	6.54	1	6.71	1	6.87
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL	2	7.01	2	6.89	3	6.71	4	6.54
	BENZOCAINA HIDROCORTISONA	2	7.14	2	6.58	3	6.43	4	6.32
	CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.89	2	6.71	3	6.38	4	6.21
	BENZOCAINA CLORAMFENICOL HIDROCORTISONA	2	6.93	3	6.51	4-4	6.02	5-5	5.93

Los resultados anteriores, se comparan en las siguientes graficas.

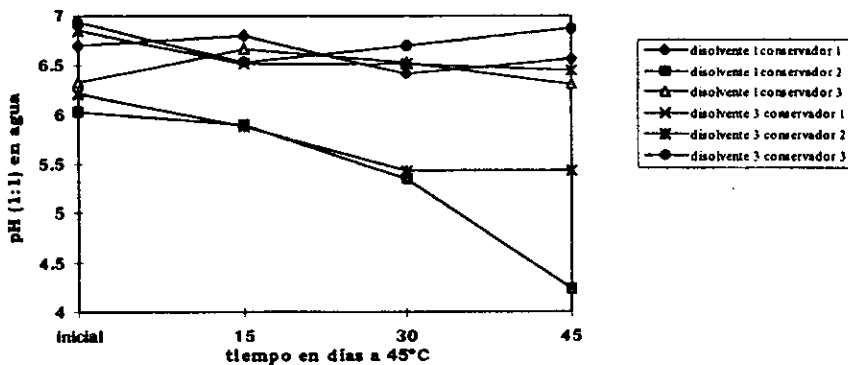
**GRAFICA 7.8 Comparación de pH para Benzocaína con los disolventes y conservadores propuestos.**



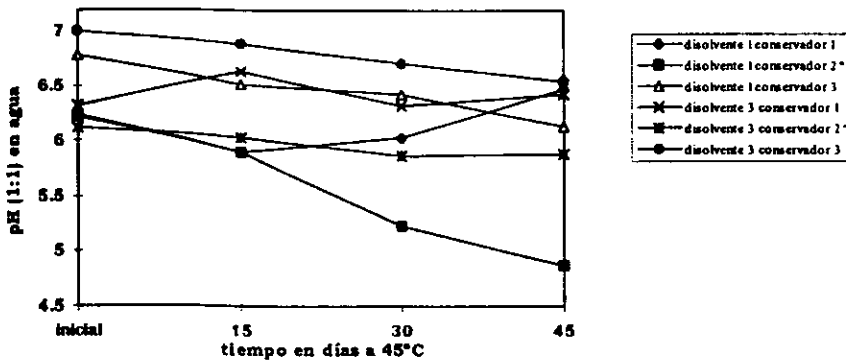
**GRAFICA 7.9 Comparación de pH para Cloramfenicol con los disolventes y conservadores propuestos.**



**GRAFICA 7.10 Comparación de pH para Hidrocortisona con los disolventes y conservadores propuestos.**

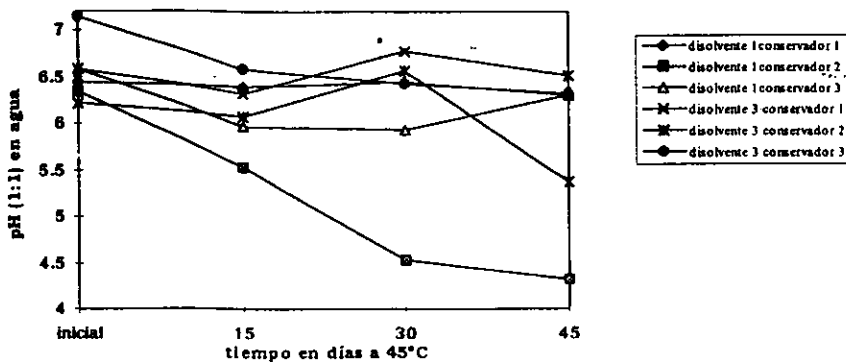


**GRAFICA 7.11 Comparación de pH para Benzocaina-Cloramfenicol con los disolventes y conservadores propuestos.**

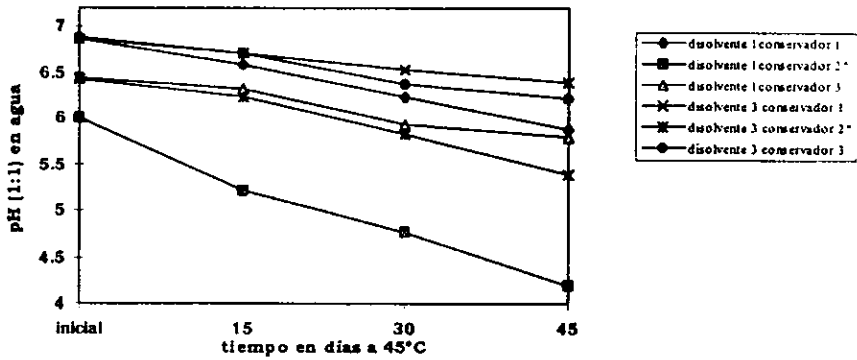


\* Forma precipitado

**GRAFICA 7.12 Comparación de pH para Benzocaina-Hidrocortisona con los disolventes y conservadores propuestos.**

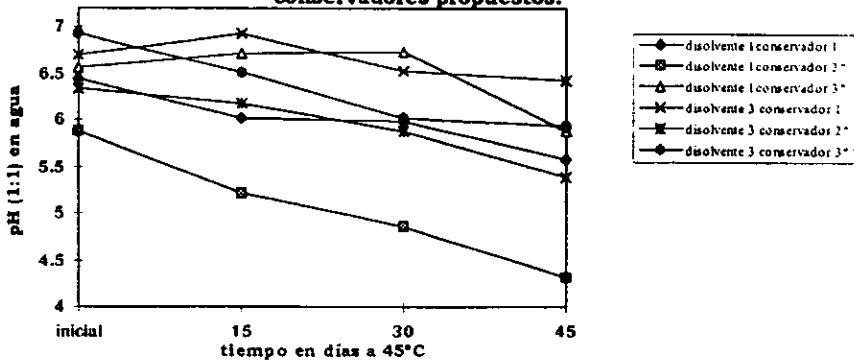


**GRAFICA 7.13 Comparación de pH para Cloramfenicol-Hidro cortisona con los disolventes y conservadores propuestos.**



\* Forma precipitado

**GRAFICA 7.14 Comparación de pH para Benzocaina-Cloramfenicol-Hidro cortisona con los disolventes y conservadores propuestos.**



\* Forma precipitado

7.2. Formulación

En la etapa de formulación se probaron las fórmulas seleccionadas con disolvente 3 y con disolvente 1, además se compararon contra fórmulas similares incluyendo un agente estabilizante en este caso fueron antioxidante I y antioxidante II, los resultados en esta etapa se muestran a continuación:

**TABLA 7.12. Resultados de estabilidad física para las pruebas realizadas con fórmulas completas**

PRUEBA	TIEMPO							
	INICIAL		20 DIAS 45°C		40 DIAS 45°C		60 DIAS 45°C	
	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH	APARIENCIA (*)	pH
1 FORMULA A (1) SOLA	2	6.78	3	7.00	5	6.75	7	6.61
2 FORMULA B (2) SOLA	2	6.56	3	6.45	5	5.78	7	5.54
3 FORMULA A CON ANTIOXIDANTE I	2	7.23	3	6.89	5	6.75	7	6.67
4 FORMULA B CON ANTIOXIDANTE I	2	6.89	3	6.71	5	6.56	7	6.45
5 FORMULA A CON ANTIOXIDANTE II	2	7.01	2	7.12	2	7.09	2	7.21
6 FORMULA B CON ANTIOXIDANTE II	2	6.89	3	6.75	4	6.84	5	6.56

(1) Formula A, es la fórmula completa vehículo disolvente 3 (ver tablas 6.3 y 6.4 de Metodología Experimental)

(2) Formula B, es la fórmula completa vehículo disolvente 1. (ver tablas 6.3 y 6.4 de Metodología Experimental)

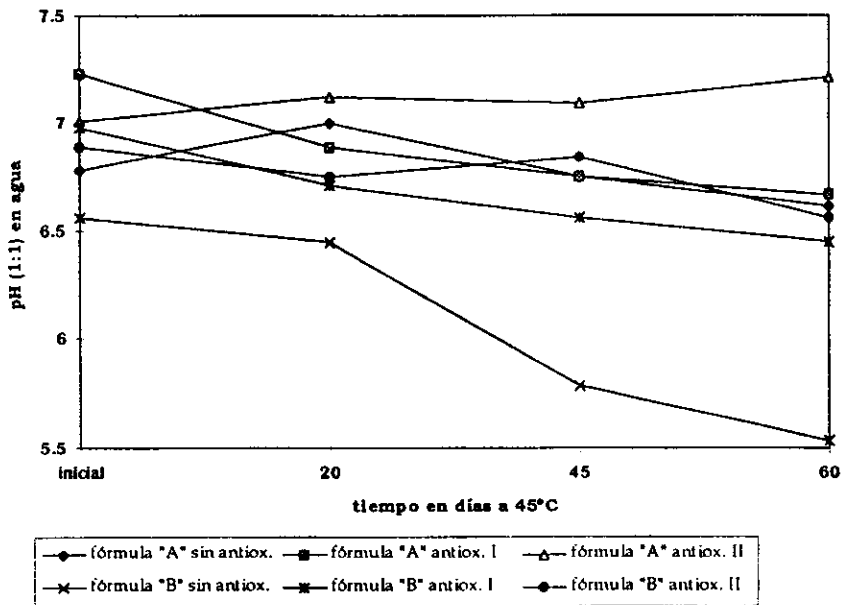
**(\*) DESCRIPCION PARA APARIENCIA:**

- 1: LIQUIDO TRANSPARENTE INCOLORO, SIN PRECIPITADO
- 2: LIQUIDO LIGERAMENTE AMARILLO, SIN PRECIPITADO
- 3: LIQUIDO AMARILLENTO, SIN PRECIPITADO
- 4: LIQUIDO AMARILLO CLARO, SIN PRECIPITADO
- 5: LIQUIDO AMARILLO, SIN PRECIPITADO
- 6: LIQUIDO AMARILLO INTENSO, SIN PRECIPITADO
- 7: LIQUIDO AMARILLO LIGERAMENTE AMBAR, SIN PRECIPITADO
- 8: LIQUIDO AMIBAR, SIN PRECIPITADO
- 9: LIQUIDO AMIBAR MUY INTENSO, SIN PRECIPITADO



Los resultados graficados, de la variación de pH, se presentan a continuación:

GRAFICA 7.15. Comparación de pH en las dos fórmulas propuestas con y sin antioxidantes.



7.3. Optimización

A continuación se presentan los resultados para la optimización con antioxidante II.

**TABLA 7.13. Resultados de valoración para Benzocaina en la optimización de fórmula**

TIEMPO	NUMERO DE REPETICION	CONCENTRACION DE ANTIOXIDANTE II		
		sin antioxidante	antioxidante II, conc.1	antioxidante II, conc.2
INICIAL	UNO	108.72	109.17	109.30
	DOS	111.30	109.73	110.60
	TRES	108.01	109.26	109.79
UN MES 45°C	UNO	105.45	108.57	108.34
	DOS	107.22	107.79	108.63
	TRES	107.90	107.79	108.64
DOS MESES 45°C	UNO	103.69	104.73	107.06
	DOS	104.23	104.31	105.79
	TRES	104.66	104.99	105.10
TRES MESES 45°C	UNO	100.49	101.95	100.65
	DOS	99.93	99.87	101.83
	TRES	102.06	102.34	99.73

**Tabla 7.14. Resultados de valoración para Cloramfenicol en la optimización de fórmula**

TIEMPO	NUMERO DE REPETICION	CONCENTRACION DE ANTIOXIDANTE II		
		sin antioxidante	antioxidante II, conc.1	antioxidante II, conc.2
INICIAL	UNO	102.79	101.86	101.80
	DOS	102.95	100.02	104.04
	TRES	102.26	100.05	103.86
UN MES 45°C	UNO	94.70	96.02	96.95
	DOS	94.89	95.63	98.62
	TRES	96.03	96.34	98.63
DOS MESES 45°C	UNO	87.30	88.37	90.87
	DOS	87.72	88.23	93.01
	TRES	87.70	88.73	92.35
TRES MESES 45°C	UNO	76.68	78.90	81.51
	DOS	74.66	75.58	80.20
	TRES	75.89	77.40	79.37

Tabla 7.15. Resultados de valoración para Hidrocortisona en la optimización de fórmula

TIEMPO	NUMERO DE REPETICION	CONCENTRACION DE ANTIOXIDANTE II		
		sin antioxidante	antioxidante II, conc.1	antioxidante II, conc.2
INICIAL	UNO	101.05	100.22	100.54
	DOS	101.30	101.45	102.06
	TRES	100.82	101.28	102.37
UN MES 45°C	UNO	95.09	96.93	98.55
	DOS	95.83	97.06	99.55
	TRES	94.47	97.77	99.58
DOS MESES 45°C	UNO	89.29	90.78	93.70
	DOS	88.98	91.79	94.59
	TRES	88.04	91.80	94.16
TRES MESES 45°C	UNO	88.66	89.80	91.18
	DOS	88.41	89.70	93.38
	TRES	87.24	89.05	91.53

Para poder realizar el análisis estadístico de los resultados obtenidos, se ajusta al 100% los valores obtenidos, tomando como referencia los porcentajes iniciales. los valores corregidos están a continuación.

TABLA 7.16. Ajuste a un 100% de la cantidad inicial

Tiempo a 45°C	Repetición	CLORAMFENICOL			BENZOCAINA			HIDROCORTISONA		
		sin antiox.	antiox II conc.1	antiox II conc.2	sin antiox.	antiox II conc.1	antiox II conc.2	sin antiox.	antiox II conc.1	antiox II conc.2
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1 mes	1	92.1296	94.2666	95.2358	96.9923	99.4504	99.1217	94.1019	96.7172	98.0207
	2	92.1710	95.6109	94.7905	96.3342	98.2320	98.2188	94.6002	95.6727	97.2859
	3	93.9077	96.2919	94.9644	99.8982	98.6546	98.9525	93.7016	96.5344	97.2746
2 meses	1	84.9304	86.7563	89.2633	95.3734	95.9329	97.9506	88.3622	90.5807	93.1967
	2	85.2064	88.2124	89.3983	93.6478	95.0606	95.6510	87.8381	90.4781	92.6808
	3	85.7618	88.6857	88.9178	96.8984	96.0919	95.7282	87.3239	90.6398	91.9801
3 meses	1	74.5987	77.4593	80.0688	92.4301	93.3865	92.0860	87.7387	89.6029	90.6903
	2	72.5206	75.5649	77.0857	89.7844	91.0143	92.0705	87.2754	88.4179	91.4952
	3	74.2128	77.3613	76.4202	94.4913	93.6665	90.8371	86.5305	87.9246	89.4110

A continuación se presentan los resultados para el análisis de varianza de acuerdo al modelo que se describe en el apéndice B, tabla 11.1. Un modelo de tres factores.

**TABLA 7.17. Resultados del análisis de varianza para los efectos temperatura, principio activo y antioxidante.**

fuelle de variación	grados de libertad (g.l.)	suma de cuadrados (S.C.)	media de cuadrados (M.C.)	F de cálculo	F de tablas
T i	2	1504.893	752.447	673.434	3.230
A j	2	1232.132	616.066	616.066	3.230
S k	2	96.018	48.009	48.009	3.230
T A i j	4	454.622	113.655	113.655	2.610
T S i k	4	4.090	1.023	1.023	2.610
A S j k	4	31.593	7.898	7.898	2.610
T A S i j k	8	5.868	0.733	0.733	2.180
E l(i j k)	54	60.336	1.117		

donde T= tiempo, A= principio activo, S= antioxidante

Para los criterios de aceptación de la tabla anterior tenemos, para la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) e hipótesis alterna (H<sub>a</sub>):

TABLA 7.18. Contraste de hipótesis para los tres factores y sus interacciones.

fuelle de variación	Hipótesis nula (H <sub>0</sub> ) F tablas > F calc	Hipótesis alterna (H <sub>a</sub> ) F tablas < F calc	Resultado
tiempo	No existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Se acepta la Hipótesis alterna.
principio activo	No existe diferencia significativas entre los valores medios para Benzocaina, Cloramfenicol e Hidrocortisona.	Existe diferencia significativa entre los valores medios para Benzocaina, Cloramfenicol e Hidrocortisona.	Se acepta la Hipótesis alterna.
antioxidante	No existe diferencia significativas entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Se acepta la Hipótesis alterna.
tiempo-principio activo	No existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-principio activo.	Existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-principio activo.	Se acepta la Hipótesis alterna.
tiempo-antioxidante	No existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Se acepta la Hipótesis nula.
principio activo-antioxidante	No existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto principio activo-antioxidante.	Existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto principio activo-antioxidante.	Se acepta la Hipótesis alterna.
tiempo-principio activo-antioxidante	No existe diferencia significativa para los valores medios del triple efecto tiempo-principio activo-antioxidante.	Existe diferencia significativa para los valores medios del triple efecto tiempo-principio activo-antioxidante.	Se acepta la Hipótesis nula.

Debido a que existe un doble efecto principio activo-antioxidante se realiza el análisis de varianza para cada uno de los principios activos. el modelo estadístico utilizado se presenta en el apéndice B, tabla 11.2. los resultados obtenidos se muestran a continuación.

**TABLA 7.19. Resultados del análisis de varianza para Benzocaína**

fuelle de variación	grados de libertad (g.l.)	suma de cuadrados (S.C.)	media de cuadrados (M.C.)	F de cálculo	F de tablas
Ti	3 - 1	176.286	88.143	83.247	3.550
Sj	3 - 1	2.047	1.023	0.967	3.550
T Sij	(3-1) (3-1)	3.659	0.914	0.864	2.930
E l(ij)	(3-1) 3 x 3	34.145	1.897		

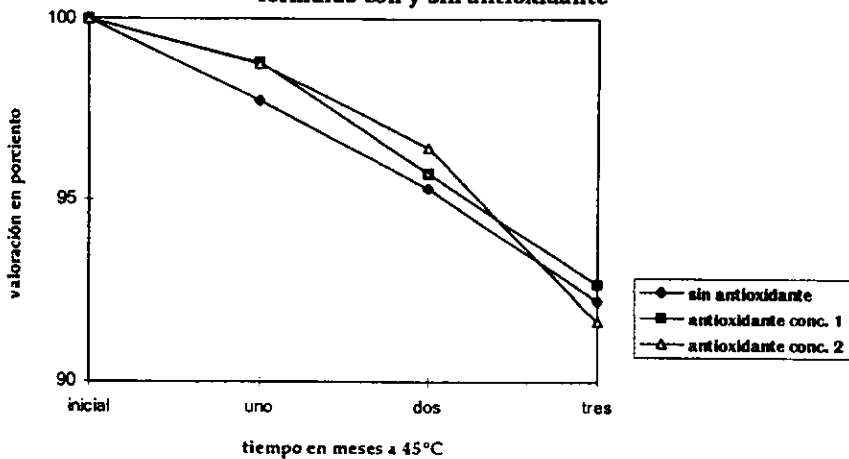
donde T= tiempo, S= antioxidante

**TABLA 7.20. Contraste de hipótesis para Benzocaína, con dos factores y sus interacciones.**

fuelle de variación	Hipótesis nula (Ho) F tablas > F calc	Hipótesis alterna (Ha) F tablas < F calc	Resultado
tiempo	No existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Se acepta la Hipótesis alterna.
antioxidante	No existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Se acepta la Hipótesis nula
tiempo-antioxidante	No existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante	Se acepta la Hipótesis nula

Los resultados para los valores promedios de Benzocaína tabla 7.16. se presentan graficados a continuación.

**GRAFICA 7.16. Comparación de valoración para Benzocaina en fórmulas con y sin antioxidante**



**TABLA 7.21. Resultados del análisis de varianza para Cloramfenicol**

fuentes de variación	grados de libertad (g.l.)	suma de cuadrados (S.C.)	media de cuadrados (M.C.)	F de cálculo	F de tablas
Ti	3 - 1	1524.655	762.327	719.982	3.550
Sj	3 - 1	58.949	29.475	27.837	3.550
T S ij	(3-1) (3-1)	3.804	0.951	0.898	2.930
E l(ij)	(3-1) 3 x 3	19.058	1.058		

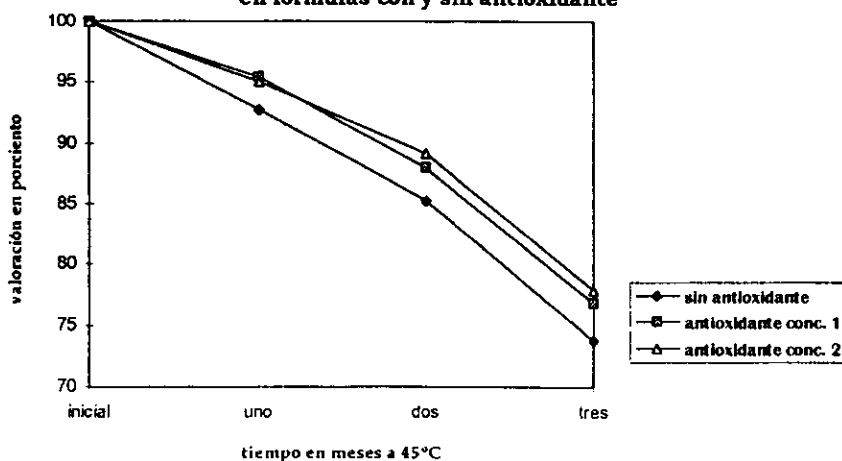
donde T= tiempo, S= antioxidante

**TABLA 7.22. Contraste de hipótesis para Cloramfenicol, con dos factores y sus interacciones.**

fuelle de variación	Hipótesis nula (H <sub>0</sub> ) F tablas > F calc	Hipótesis alterna (H <sub>a</sub> ) F tablas < F calc	Resultado
tiempo	No existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Se acepta la Hipótesis alterna.
antioxidante	No existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Se acepta la Hipótesis alterna
tiempo-antioxidante	No existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Se acepta la Hipótesis nula

Los resultados para los valores promedios de Cloramfenicol, tabla 7.16, se presentan graficados a continuación.

**GRAFICA 7.17. Comparación de valoración para Cloramfenicol en fórmulas con y sin antioxidante**





**TABLA 7.23. Resultados del análisis de varianza para Hidrocortisona**

fuelle de variación	grados de libertad (g.l.)	suma de cuadrados (S.C.)	media de cuadrados (M.C.)	F de cálculo	F de tablas
T i	3 - 1	258.567	129.284	122.103	3.550
S j	3 - 1	66.609	33.304	31.455	3.550
T S i j	(3-1) (3-1)	2.503	0.626	0.591	2.930
E l(ij)	(3-1) 3 x 3	7.132	0.396		

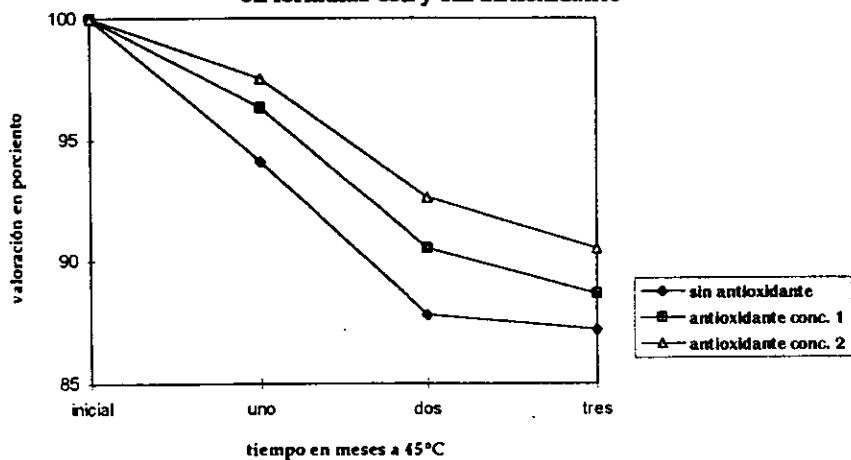
donde T= tiempo, S= antioxidante

**TABLA 7.24. Contraste de hipótesis para Hidrocortisona, con dos factores y sus interacciones.**

fuelle de variación	Hipótesis nula (H <sub>0</sub> ) F tablas > F calc	Hipótesis alterna (H <sub>a</sub> ) F tablas < F calc	Resultado
tiempo	No existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Existe diferencia significativa entre las medias a uno, dos y tres meses.	Se acepta la Hipótesis alterna.
antioxidante	No existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Existe diferencia significativa entre los valores medios de las diferentes concentraciones de antioxidante.	Se acepta la Hipótesis alterna
tiempo-antioxidante	No existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Existe diferencia significativa para los valores medios del doble efecto tiempo-antioxidante.	Se acepta la Hipótesis nula

Los resultados de las valoraciones promedio para Hidrocortisona, tabla 7.16, se presentan graficados a continuación.

**GRAFICA 7.18. Comparación de valoración para Hidrocortisona en fórmulas con y sin antioxidante**



## 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 8.1 Preformulación

**Solubilidad y compatibilidad.** Las pruebas de solubilidad y estabilidad física para cada uno de los principios activos: Benzocaína, Cloramfenicol e Hidrocortisona y sus mezclas en los 5 disolventes proporcionan la siguiente información:

- a) **Benzocaína.** Su comportamiento en los cinco disolventes es similar, como se puede ver en las tablas 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5. No existe cambio de color y la variación de pH no excede a 0.6 unidades. En la gráfica 7.1 se observa que el disolvente cuatro tiene la variación de pH más pronunciada. En ningún caso se forma precipitado. Solución óptica de Benzocaína con cualquiera de los disolventes se puede formular, debido a las características ácido-básicas de los disolventes al no modificar en gran medida el pH, la reacción de hidrólisis para benzocaína se ve disminuida, no afectando el contenido de agua de cada disolvente.
- b) **Cloramfenicol.** Como se puede observar en las tablas 7.4 y 7.5, los disolventes cuatro y cinco producen cambios de color en las soluciones, en la tabla 7.2 disolvente dos tiene cambios de color menos acentuados. Solo los disolventes uno y tres no presentan cambios de color como se observa en las tablas 7.1 y 7.3. El cambio de color para el Cloramfenicol es consecuencia de la hidrólisis que ocurre cuando se degrada, el producto de degradación presenta color. En la gráfica 7.2 se observa que el disolvente 5, presenta la mayor variación de pH. Variación de pH y cambio de color son indicativos de la degradación que tiene el Cloramfenicol. Los disolventes uno y tres varían menos de pH y no presentan cambios de color. Disolvente uno y disolvente tres son adecuados para formular solución óptica con Cloramfenicol, lo cual indica que para producirse la reacción de degradación (hidrólisis) el contenido de agua es importante, en los disolventes de mayor contenido de agua la hidrólisis es mayor, mientras que donde es menor el contenido de agua la degradación disminuye.
- c) **Hidrocortisona.** En las tablas 7.1, 7.2 y 7.3, se observa que los disolventes uno, dos y tres no presentan cambios de color, ni de formación de precipitado, en la tabla 7.4 el disolvente cuatro no presenta cambio de color pero a los 45 días forma un precipitado. En la tabla 7.5 el disolvente cinco presenta un ligero cambio de color, pero en la gráfica 7.3 se observa que el disolvente cinco presenta la variación de pH más elevada lo que indica que existen cambios. El disolvente dos varía su pH, aunque no hay cambios de color. Soluciones de Hidrocortisona se pueden formular con disolvente uno y disolvente tres. La reacción de degradación (oxidación), al parecer no tiene

relación con variación de pH son otras características como potencial de oxido-reducción del disolvente las que pueden estar más relacionadas con la oxidación de la hidrocortisona, aunque también se debe tener en cuenta la formación de radicales libres, que están relacionados también con las características de los disolventes

**d) Benzocaína-Cloramfenicol.** Mezclas de estos dos principios activos presentan mayor cambio de color que para Benzocaína o Cloramfenicol por separado se puede observar en las tablas 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, y 7.5 que el disolvente cuatro tiene cambio de color indicado como 7, el más elevado, los disolventes dos y cinco varían su color en 6 y 5 respectivamente, mientras que el disolvente tres y el disolvente uno cambian de color aunque en un rango menor. En la gráfica 7.4 el disolvente cuatro tiene la mayor variación de pH, indica degradación. El contenido de agua está relacionado con la reacción de hidrólisis del Cloramfenicol cuando esta presente la Benzocaína, el disolvente cuatro tiene un 30% de agua, mientras que en los disolventes tres y uno el contenido de agua es mínimo. Para que se lleven a cabo estas reacciones primero debe ocurrir la hidrólisis de la Benzocaína y el producto de su hidrólisis junto con el agua que existe facilita la hidrólisis del Cloramfenicol, esta interpretación es porque Benzocaína y Cloramfenicol por separado no presentan los mismos cambios que en mezcla. Los disolventes tres y uno son los más adecuados para formular solución óptica de mezcla Benzocaína-Cloramfenicol.

**e) Benzocaína-Hidrocortisona.** Mezclas de estos dos principios activos producen soluciones de más color que cada uno por separado, el disolvente cuatro es el que presenta mayor cambio de color y formación de precipitado, aunque la formación del precipitado también se observa para la Hidrocortisona sola, como se puede ver en la tabla 7.4, mientras que en las tablas 7.1 y 7.3, los disolventes uno y tres presentan cambio de color aunque es menor. Nuevamente la presencia de la Benzocaína promueve oxidación de Hidrocortisona, para lo cual primero debe ocurrir hidrólisis de Benzocaína y el producto de esta hidrólisis puede hacer que se desencadene la reacción de oxidación en Hidrocortisona y la presencia de agua que tiene el disolvente favorece esta reacción. En la gráfica 7.5 se observa que el disolvente cinco varía más el pH. Solución óptica de Benzocaína-Hidrocortisona se pueden formular con disolvente tres y disolvente uno.

**f) Cloramfenicol-Hidrocortisona.** Mezclas de estos dos principios activos son las más coloridas en todos los disolventes como se puede observar en las tablas 7.1, 7.2, 7.3, 7.4 y 7.5, aún en los disolventes tres y uno existe un marcado cambio de color, la interacción entre los dos principios activos aunque se observa que se relaciona con el contenido del agua del solvente, también influye las características de cada uno de los principios activos, la

hidrólisis del Cloramfenicol favorece la oxidación de la Hidrocortisona o que la Hidrocortisona aún sin oxidarse promueva la hidrólisis del Cloramfenicol. En la gráfica 7.6 se observa que la variación de pH no es elevada, el cambio de color con respecto a la variación de pH parece no estar relacionado, como si ocurre en las demás mezclas. El comportamiento de esta mezcla es muy especial y aún los disolventes tres y uno no parecen ser adecuados para una fórmula que contenga Cloramfenicol-Hidrocortisona, por lo que suponemos que la reacción de hidrólisis para Hidrocortisona es por radicales libres y el Cloramfenicol puede ser el iniciador de esta reacción.

**g) Benzocaina-Cloramfenicol-Hidrocortisona.** Como se puede observar en las tablas 7.1, 7.2 y 7.3 los disolventes uno, dos y tres cambian de color, aunque menos del cambio que ocurre en los disolventes cuatro y cinco, como se observa en las tablas 7.4 y 7.5. donde se ve que la presencia del agua del disolvente afecta en gran medida la estabilidad en la mezcla de los tres principios activos. En la gráfica 7.7, los disolventes cuatro y cinco presentan una disminución bastante marcada de pH, como consecuencia de la degradación que existe. Respecto a los disolventes uno, dos y tres, la utilización del disolvente dos se descarta por presentar formación de precipitado. El disolvente tres parece ser el más adecuado aunque al evaluar la mezcla de los tres principios activos el comportamiento del disolvente uno también tiene posibilidades, por lo cual se continúa con los disolventes tres y uno. Las reacciones de hidrólisis para Benzocaina y Cloramfenicol junto con la de oxidación de la Hidrocortisona no se ven modificadas cuando están los tres principios activos juntos, al parecer hasta parece que disminuyen ligeramente en lo que respecta a cambio de color sobre todo respecto a mezclas Cloramfenicol-Hidrocortisona.

**Compatibilidad con agente conservador.** Para seleccionar un agente conservador se consideran los disolventes uno y tres, la información que dieron las pruebas es la siguientes:

**a) Disolvente uno conservador I.** La tabla 7.6, presenta los resultados de estas pruebas, al comparar contra las pruebas sin conservador la incorporación del conservador I, no modifica la apariencia. Mientras que el pH varía un poco menos como se puede observar, al comparar tabla 7.1 con tabla 7.6.

**b) Disolvente tres conservador I.** La tabla 7.7, muestra los resultados, al comparar la apariencia de las pruebas con respecto a la tabla 7.1, parece que modifica en forma favorable, el cambio de color es un poco menor. El cambio de pH también es mucho menor que para las pruebas sin conservador I. El efecto de amortiguar un poco el

pH parece que logra disminuir las reacciones de hidrólisis para Cloramfenicol y Benzocaína lo que ayuda también a reducir un poco la oxidación de la Hidrocortisona.

c) **Disolvente uno conservador II.** Genera la formación de precipitado en las mezclas binarias y la de los tres principios activos, como se puede observar en la tabla 7.8, aunque el color no aumenta el pH se ve afectado, parece que la modificación en el pH produce la precipitación aunque no afecta las reacciones de degradación porque no hay un cambio de color mas acentuado. Por apariencia física no es adecuado.

d) **Disolvente tres conservador II.** En la tabla 7.9 se observa un efecto muy similar al que ocurre con el disolvente uno, precipitación y cambio de pH (un poco menos de variación). No resulta adecuado.

e) **Disolvente uno conservador III.** En la tabla 7.10 se observa que en la mezcla de los tres principios activos produce precipitación, no modifica el pH respecto a pruebas sin conservador. No resulta adecuado.

f) **Disolvente tres conservador III.** La tabla 7.11, muestra los resultados donde se ve efecto similar respecto al disolvente uno, la mezcla de los tres produce un precipitado. Este precipitado puede atribuirse tal vez a que el conservador III, es difícil disolver tanto en el disolvente uno como en el tres.

Respecto a las gráficas 7.8, en el caso de Benzocaína, el disolvente tres con el conservador II es el que varia más de pH, los demás se comportan de manera similar. En la gráfica 7.9, para Cloramfenicol el disolvente uno con el conservador II tiene la mayor variación de pH, los demás se comportan de manera similar. En la gráfica 7.10, para la Hidrocortisona se comporta de manera similar al Cloramfenicol, la mayor variación es con disolvente uno conservador II. En la gráfica 7.11, Benzocaína-Cloramfenicol precipita disolvente uno con conservador II y también disolvente tres con conservador II, los demás tienen una variación de pH similar. En la gráfica 7.12, Benzocaína-Hidrocortisona, disolvente uno conservador II varia más en pH, los demás se comportan de manera similar. En la gráfica 7.13, Cloramfenicol-Hidrocortisona el disolvente uno conservador II y disolvente tres conservador II, forman precipitado y varia el pH, los demás presentan poca variación de pH. En la gráfica 7.14, solamente el conservador I con los disolventes uno y tres no forman precipitado, los restantes, sí. El conservador seleccionado fué el conservador II, con disolvente tres (primera opción) y disolvente uno (segunda opción).

### 8.2 Formulación.

En la tabla 7.12 se presentan los resultados para fórmulas completas en las que se trata de mejorar la estabilidad al introducir un agente oxidante el cual bloqueara la reacción de oxidación que ocurre en la Hidrocortisona al comparar la apariencia de la fórmula "A" (que tiene el disolvente tres y el conservador uno) sin antioxidante es notable el cambio respecto a la fórmula con antioxidante II, al no presentar cambio de color. La fórmula "B" (con disolvente uno y conservador uno), con el antioxidante II, presenta cambio de color aunque es menor al que ocurre sin antioxidante o con el antioxidante I. Esto hace suponer que el antioxidante II, disminuye las reacciones de degradación, también suponemos que la reacción de oxidación es por radicales libres, el antioxidante seleccionado bloquea este tipo de oxidaciones. En la gráfica 7.15 se puede observar la variación de pH, la fórmula "B" sin antioxidante tiene la mayor variación de pH, aunque en cambio de color resulta ser similar a otras fórmulas, solamente en una de las fórmula sucede que en vez de disminuir el pH, este se incrementa, lo cual ocurre con la fórmula "A", antioxidante II, las restantes cuatro fórmulas se comportan de manera similar a la variación de pH.

### 8.3 Optimización.

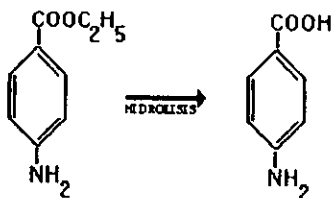
Respecto a los resultados para la optimización con antioxidante II se utilizan dos concentraciones comparadas contra una fórmula sin antioxidante. Solo se realizan valoraciones de cada uno de los activos, las mediciones de pH y cambio de color se omiten debido a la estabilización lograda en la primera etapa son parámetros que no son necesarios considerar nuevamente. Las tablas 7.13, 7.14 y 7.15, presentan los resultados en la cuantificación de los tres principios activos utilizando un método analítico por cromatografía de líquidos, el cual es un método validado. La tabla 7.16 presenta los resultados de las valoraciones ajustados a un 100% se considera la valoración inicial, por lo que solo aparecen resultados a uno, dos y tres meses, desaparece la valoración inicial que se utiliza para ajustar.

**Análisis de varianza para los tres principios activos.** El análisis de varianza se realiza con tres variables: tiempo, principio activo y antioxidante, con el modelo de la tabla 11.1 del apéndice "B", en la tabla 7.18 aparecen los resultados para cada una de las fuentes de variación y en la tabla 7.19 se da la interpretación de estos resultados. Como se observa la fuente de variación Tiempo afecta la estabilidad y se considera que por ser un

estudio de estabilidad acelerada nuestro punto de correlación. La fuente de variación Principio activo indica que la degradación es diferente para cada uno de ellos aunque no se puede establecer quien es mas estable y cual es más sensible a la degradación, el modelo no lo permite. Para la variable Antioxidante se advierte que sí afecta a la estabilidad de los activos aunque no indica a cual o cuales de acuerdo al análisis de varianza , de aqui que es necesario realizar análisis de varianza para cada uno de los principios activos, porque una de las finalidades de este proyecto fue establecer si un agente modifica la estabilidad de la formulación. En el caso de las variables de doble interacción se puede mencionar que solo la doble interacción tiempo-antioxidante, no presenta efecto, aunque la doble interacción activo-antioxidante tiene efecto esta se ve limitada por el mismo tiempo. En otras palabras el efecto antioxidante que proporciona, esta limitado por el tiempo aunque no se sabe hasta cuando termina; primero o segundo mes. La triple interacción no tiene efecto. Esto significa que al evaluar de manera global estas tres variables no se puede lograr establecer una correlación.

**Análisis de varianza para Benzocaína.** Al realizar el análisis de varianza para cada uno de los principios activos con el modelo de la tabla 11.2. apendice "B". En la tabla 7.22 se observa para Benzocaína que la afecta el tiempo. el antioxidante no afecta porque la Benzocaína no se degrada por un mecanismo de oxidación. Por lo mismo no hay un doble efecto tiempo-antioxidante. la reacción de degradación para Benzocaína es la siguiente:

Figura 8.1 Reacción de degradación para Benzocaína



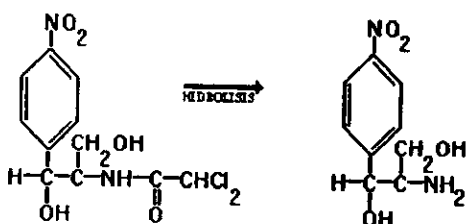
La gráfica 7.16 presenta los valores promedio de la valoración se observa en las curvas que las diferencias entre las fórmulas con y sin antioxidante son minimas.

**Análisis de varianza para Cloramfenicol.** Se observa en la tabla 7.23, y 7.24 para Cloramfenicol que existe efecto del antioxidante en la estabilidad del Cloramfenicol. aunque este sabemos que se degrada por una reacción



de hidrólisis, esto se interpreta como un efecto indirecto, el efecto del tiempo es importante y el valor tan alto de la F de calculo sugiere que es el más sensible de los tres principios activos a la estabilidad acelerada, hay que recordar que generalmente los antibióticos son mas sensible a condiciones aceleradas de temperatura. No se observa un doble efecto tiempo-antioxidante, por ser limitado el efecto del antioxidante. La reacción de degradación es la siguiente:

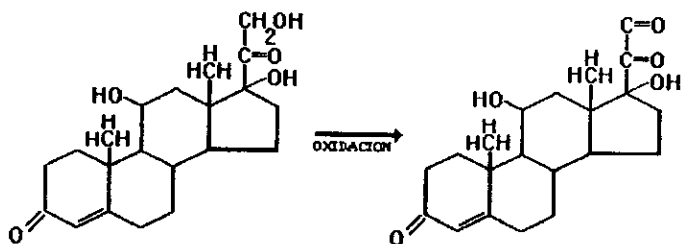
Figura 8.2 Reacción de degradación para Cloramfenicol



La gráfica 7.17 muestra los valores promedio para las valoraciones de Cloramfenicol, se observa una diferencia entre la fórmula sin antioxidante y las fórmulas con antioxidante, aunque las fórmulas con antioxidante tienen la misma forma.

**Análisis de varianza para Hidrocortisona.** En las tablas 7.23 y 7.24 se encuentra el análisis de varianza para Hidrocortisona, el antioxidante modifica su estabilidad, porque bloquea la reacción de oxidación por la cual se degrada. Esto sugiere que la reacción de oxidación de la Hidrocortisona, forma un producto de degradación que hidroliza al Cloramfenicol, por tal motivo el antioxidante modifica tanto a la estabilidad de la Hidrocortisona de manera directa y de manera indirecta la estabilidad del Cloramfenicol. El efecto del antioxidante está limitado por el tiempo por lo que no existe una doble interacción. La reacción de degradación para Hidrocortisona es la siguiente:

## 8.3 Reacción de degradación para Hidrocortisona



La gráfica 7.18 presenta los valores promedio para las valoraciones de Hidrocortisona, las tres curvas se encuentran separadas, lo que indica que las concentraciones diferentes de antioxidante dan como resultado curvas diferentes, esto no se observa en el caso de Cloramfenicol.

El comportamiento de estabilidad para cada uno de los principios activos dentro de la fórmula desarrollada es diferente.

## 9. CONCLUSIONES

La aplicación de las etapas de Preformulación, Formulación y Optimización fueron utilizadas en el desarrollo de la solución ótica que contiene Benzocaína, Cloramfenicol e Hidrocortisona, por lo que el objetivo principal se logró.

En la preformulación se evaluó solubilidad de los tres principios activos de forma individual y como mezclas de dos o mezclas de los tres principios activos. Las muestras de solubilidad se evaluaron despues de someterlas a condiciones aceleradas de estabilidad (temperatura 45°C), de forma individual Benzocaína, Cloramfenicol e Hidrocortisona son más estables en los diferentes disolventes, pero al estar de manera combinada los cambios de color y variación de pH son mas intensos. Sobre todo para la mezcla Cloramfenicol-Hidrocortisona. Uno de los agentes conservadores evaluados no modifica la compatibilidad de los principios activos solos y como mezclas tanto en apariencia como en variación de pH, mientras que los otros dos agentes conservadores forman precipitado, la utilización de estos dos agentes conservadores se descarta.

En la etapa de formulación fueron elegidos dos disolventes y un agente conservador en fórmulas totales las cuales fueron evaluadas y se comparan contra fórmulas en las que se incorporó un agente antioxidante, aqui el mayor inconveniente encontrado fué la solubilidad del agente antioxidante, al ser un medio con un bajo contenido de agua limitó la solubilidad de varios que se habian seleccionado, utilizando solo antioxidantes del tipo lipofílico. Se encontró diferencia en las fórmulas totales sin antioxidante y con uno de los antioxidantes ensayados por lo tanto se decidió por medio de la modificación en la concentración del agente antioxidante, tratar de optimizar la fórmula, para lo cual se realizó una evaluación por cromatografía de líquidos de fórmulas preparadas sin antioxidante y con antioxidante a diferentes concentraciones, de cada fórmula se realiza una fabricación por triplicado para poder evaluar de manera estadística, si existe efecto o no del agente antioxidante.

En la optimización el análisis de varianza utilizado tiene muchas limitaciones, porque solo indica que principio activo se ve afectado pero no dice en que medida, así como tampoco indica a que concentración tiene un efecto mayor el antioxidante, lo que si es relevante es que se demostró por un método cuantitativo que realmente el antioxidante mejora la estabilidad de Hidrocortisona y Cloramfenicol.

10. APENDICE "A"

Resultados de la validación del método analítico para la cuantificación de Benzocaina, Cloramfenicol e Hidrocortisona.

Linealidad del sistema.

Análisis de la linealidad de la curva estandar (respuesta del sistema).

PARAMETRO	BENZOCAINA	CLORAMFENICOL	HIDROCORTISONA
pendiente	1.0120	1.0100	1.0240
intercepto	0.1234	-0.1510	-0.1270
coeficiente de correlación	0.9999	0.9999	0.9998

Criterios:

Pendiente valor cercano a 1

Intercepto valor cercano a 0

Coefficiente de correlación mayor de 0.99

Precisión del sistema

Grado de concordancia entre mediciones repetidas de una misma propiedad, con una misma solución estandar al 100% del nivel normal ensayado.

PARAMETRO	BENZOCAINA	CLORAMFENICOL	HIDROCORTISONA
coeficiente de variación	0.24 %	0.22 %	0.22 %

Criterio

Coefficiente de variación menor o igual a 2%

Linealidad del método.

Medida del grado en el cual la curva de calibración del método se aproxima a la linealidad, para asegurar que el resultado obtenido es proporcional a la concentración del principio activo a evaluar, dentro de un rango de concentraciones definido.

PARAMETRO	BENZOCAINA	CLORAMFENICOL	HIDROCORTISONA
pendiente	0.9817	0.9818	0.9690
intercepto	0.2584	0.2936	0.1997
coeficiente de correlación	0.9992	0.9992	0.9993

Criterios:

Pendiente valor cercano a 1

Intercepto valor cercano a 0

Coefficiente de correlación mayor de 0.99

**Exactitud y precisión.**

Exactitud es la concordancia entre un valor experimental y el aceptado como referencia.

Precisión es el grado de concordancia entre mediciones repetidas de una misma propiedad.

PARAMETRO	BENZOCAINA	CLORAMFENICOL	HIDROCORTISONA
media	99.33 %	99.64 %	99.65 %
desviación estándar	1.42	1.98	1.40
coeficiente de variación	1.43 %	1.99 %	1.41 %
T calculada	1.9981	0.7718	1.0698
T de tablas	2.1098	2.1098	2.1098

Criterios

Coefficiente de variación menor o igual a 2 %

T calculada menor o igual a T de tablas (n-1, 95)

**Reproducibilidad.**

Es la precisión del método de análisis expresado como la concordancia entre determinaciones realizadas por diferentes analistas.

PARAMETRO	BENZOCAINA		CLORAMFENICOL		HIDROCORTISONA	
	F de calculo	F de tablas	F de calculo	F de tablas	F de calculo	F de tablas
día	7.668	161.45	0.764	161.45	15.308	161.45
analista	0.114	161.45	0.003	161.45	0.068	161.45
interacción	0.187	5.32	0.461	5.32	0.2419	5.32

Criterio

F Calculada menor a F de tablas (0.95)

**Especificidad.**

Establece que el grado de medición obtenida se debe exclusivamente a la sustancia a evaluar y no a otros componentes.

PARAMETRO	BENZOCAINA	CLORAMFENICOL	HIDROCORTISONA
tiempo de retención	7.90 minutos	4.60 minutos	5.90 minutos
retención placebo	no aparece pico	no aparece pico	no aparece pico
muestra degradada	no interfiere	no interfiere	no interfiere

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

11. APENDICE "B"

El modelo estadístico análisis de varianza para tres factores  $Y_{ijkl} = \mu + t + a + s + ta + ts + as + tas + E_{ijkl}$ . se encuentra representado en la siguiente tabla.

TABLA 11.1. Análisis de varianza para los efectos temperatura, activo y antioxidante.

fuelle de variación	grados de libertad (g.l.)	suma de cuadrados (S.C.)	media de cuadrados (M.C.)	F de cálculo	F de tablas
Ti	t-1	$\frac{\sum Y_{i...}^2}{ars} - \frac{Y_{....}^2}{tasr}$	$\frac{S.C. T}{gIT}$	$\frac{MCT}{MCE}$	$F_{0.95, gIT, gLE}$
Aj	a-1	$\frac{\sum Y_{.j..}^2}{tsr} - \frac{Y_{....}^2}{tasr}$	$\frac{S.C. A}{gIA}$	$\frac{MCA}{MCE}$	$F_{0.95, gIA, gLE}$
Sk	s-1	$\frac{\sum Y_{...k}^2}{tar} - \frac{Y_{....}^2}{tasr}$	$\frac{S.C. S}{gIS}$	$\frac{MCS}{MCE}$	$F_{0.95, gIS, gLE}$
TAij	(t-1)(a-1)	$\frac{\sum \sum Y_{ij..}^2}{sr} - \frac{\sum Y_{i...}^2}{ars} - \frac{\sum Y_{.j..}^2}{tsr} + \frac{Y_{....}^2}{tasr}$	$\frac{S.C. TA}{gITA}$	$\frac{MCTA}{MCE}$	$F_{0.95, gITA, gLE}$
TSik	(t-1)(s-1)	$\frac{\sum \sum Y_{i.k.}^2}{sr} - \frac{\sum Y_{i...}^2}{ars} - \frac{\sum Y_{...k}^2}{tar} + \frac{Y_{....}^2}{sr}$	$\frac{S.C. TS}{gITS}$	$\frac{MCTS}{MCE}$	$F_{0.95, gITS, gLE}$
ASjk	(a-1)(s-1)	$\frac{\sum \sum Y_{.j.k.}^2}{ar} - \frac{\sum Y_{.j..}^2}{tsr} - \frac{\sum Y_{...k}^2}{tar} + \frac{Y_{....}^2}{tasr}$	$\frac{S.C. AS}{gIAS}$	$\frac{MCAS}{MCE}$	$F_{0.95, gIAS, gLE}$
TASijk	(t-1)(a-1)(s-1)	$\frac{\sum \sum \sum Y_{ijk.}^2}{r} - \frac{\sum \sum Y_{ij..}^2}{sr} - \frac{\sum \sum Y_{i.k.}^2}{ar} - \frac{\sum \sum Y_{.j.k.}^2}{tr} + \frac{\sum Y_{i...}^2}{ars} + \frac{\sum Y_{.j..}^2}{tsr} + \frac{\sum Y_{...k}^2}{tar} - \frac{Y_{....}^2}{tasr}$	$\frac{S.C. TAS}{gITAS}$	$\frac{MCTAS}{MCE}$	$F_{0.95, gITAS, gLE}$
E(ijkl)	(r-1)tas	$\frac{\sum \sum \sum \sum Y_{ijkl}^2}{r} - \frac{\sum \sum \sum Y_{ijk.}^2}{r}$	$\frac{S.C. E}{gIE}$		

donde T= tiempo, A= principio activo, S= antioxidante

El modelo estadístico utilizado para el análisis de dos variables es:  $Y_{ijk} = \mu + t + s + ts + E_{ijk}$ , En la siguiente tabla está representado.

**TABLA 11.2. Análisis de varianza para cada uno de los principios activos**

Fuente de variación	grados de libertad (g.l.)	suma de cuadrados (S.C.)	media de cuadrados (M.C.)	F de cálculo	F de tablas
T i	t-1	$\frac{\sum Y_{i \bullet \bullet}^2}{sr} - \frac{Y_{\bullet \bullet \bullet}^2}{tsr}$	$\frac{S.C. T}{g.l. T}$	$\frac{M.C. T}{M.C. E}$	F <sub>0.05, g.l. T, g.l. E</sub>
S j	s-1	$\frac{\sum Y_{\bullet j \bullet}^2}{tr} - \frac{Y_{\bullet \bullet \bullet}^2}{tsr}$	$\frac{S.C. S}{g.l. S}$	$\frac{M.C. S}{M.C. E}$	F <sub>0.05, g.l. T, g.l. E</sub>
T S i j	(t-1)(s-1)	$\frac{\sum \sum Y_{ij \bullet}^2}{r} - \frac{\sum Y_{i \bullet \bullet}^2}{sr} - \frac{\sum Y_{\bullet j \bullet}^2}{tr} + \frac{\sum Y_{\bullet \bullet \bullet}^2}{tsr}$	$\frac{S.C. TS}{g.l. TS}$	$\frac{M.C. TS}{M.C. E}$	F <sub>0.05, g.l. TS, g.l. E</sub>
E l(ij)	(r-1) t s	$\sum \sum \sum Y_{ijk}^2 - \frac{\sum \sum Y_{ij \bullet}^2}{r}$	$\frac{S.C. E}{g.l. E}$		

Donde:

T= tiempo

S = concentración antioxidante



---

**12. BIBLIOGRAFIA**

1. The Merck Index  
Eleventh Edition.  
Merck & Co. Inc., USA, 1989.
  
2. Lachman L., Lieberman H., Kanig J.  
"The Theory and Practice of Industrial Pharmacy".  
De. Lea & Febiger, third edition, 1986.
  
3. Clark's Isolation and Identification of Drugs  
Second edition  
The Pharmaceutical Press, London 1986.
  
4. Handbook of Pharmaceutical Exipients.  
The American Pharmaceutical Association.  
Washington, USA, 1986.
  
5. The Extra Pharmacopoeia, Martindale.  
James E.F. Editor, Twenty-ninth Edition  
London, 1989.
  
6. Handbook of Nonprescriptions Drugs  
Nineth edition  
American Pharmaceutical Association.  
Washington, USA, 1990.
  
7. Banker G., Rhodes C.  
"Modern Pharmaceutics". Vol. 7  
Ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA. 1979.

- 
8. Rácz I.  
"Drug Formulation"  
Ed. Akadémiai Kiadó, Hungary, 1989.
  
  9. Connors K., Amidon G..  
"Chemical Stability of Pharmaceuticals"  
Wiley Interscience Publication, USA, 1979.
  
  10. Glantz S.  
"Primer of Biostatistics"  
Third Edition, Ed. Mc Graw Hill Inc., USA, 1992.
  
  11. Ama Drug Evaluations  
American Medical Association  
Forth Edition, 1980
  
  12. Remington's Pharmaceutical Science  
Marck Publishing Company  
18 th Edition, 1990.
  
  13. Florey Klaus  
Analytical Profiles of Drug Substances  
Vol. 12, Academic Press, 1983.
  
  14. Florey Klaus  
Analytical Profiles of Drug Substances  
Vol. 12, Academic Press, 1985.
  
  15. Florey Klaus  
Analytical Profiles of Drug Substances  
Vol. 15, Academic Press. 1986.

16. Marques M.J.  
"Probabilidad y Estadística, para Ciencias Químico-Biológicas".  
México, 1991.
  
17. Cartensen J.T.  
"Theory of Pharmaceutical Systems".  
Academic. Press, New York, 1972
  
18. "Pharmaceutical Thecnology", Drug Stability.  
Rubinstein M.H., Editor.  
Ellis Horwood Limited Publishers, U.S.A., 1989
  
19. "Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms".  
Ansel H.C.  
Fourth Edition.  
Lea&Febiger, Philadelphia, 1985.
  
20. "Statcal Methods in Soil and Land Resorce Surovey".  
Webster R. and Oliver M.A,  
Oxford Unyversity -Press, 1990.
  
21. Smith G., Kennedy D., "Hydrolysis Kinetics of Benzocaine y homologs in the presence of Nonionic Surfactant", J. Pharm. Science, 63 (5) May , 1974.
  
22. Allen A., Gupta V, "Stability of Hidrocortisone in Polyethylene Glycol Ointment Base", J. Pharm. Science, 63 (1), Jan., 1974..
  
23. Bansal N., Holleran E., "Stabilizing Effect of Fructose on Aqueous Solutions of Hydrocortisone", J. Pharm. Science, 72 (9), Sep., 1983.
  
24. Cornejo J., Hermosin M., White J., Peck G., "Oxidative Degradation of Hydrocortisone in Presence of Attapulgitc", J. Pharm. Science, 69 (8) Aug., 1980.

25. Hagen T., Flynn G., "Solubility of Hydrocortisone in Organic Aqueous Media: Evidence for Regular Solution Behavior in Apolar Solvents". *J. Pharm. Science*, 72 (4) Apr., 1983.
26. Johnson K., Amidon G., Pogany, "Solution Kinetics of a Water-Soluble Hydrocortisone Prodrug: Hydrocortisone-21-lysinate". *J. Pharm. Science*, 74 (1) Jan., 1985.
27. Kaliszan R. "Surface Electric of the Active and Inactive Polymorphs of Chloramphenicol". *J. Pharm. Science*, 75 (2), Feb., 1986.
28. Gutierrez, H. Desarrollo y Validación de un método analítico para cuantificar Benzocaina, Hidrocortisona y Cloramfenicol en solución ótica, por cromatografía de líquidos de alta resolución. Facultad de Química, 1994.