

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FARMACIA INDUSTRIAL

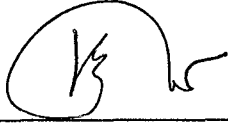
**APORTACIÓN AL ESTUDIO DEL EFECTO DE DIFERENTES
ANTIOXIDANTES Y DEL ACONDICIONAMIENTO PRIMARIO
SOBRE LA ESTABILIDAD DE FORMULACIONES MAGISTRALES
DERMATOLÓGICAS DE ÁCIDO RETINOICO ASOCIADO CON
HIDROQUINONA**

**Tesis sometida a la consideración del Tribunal Examinador Designado
por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Facultad de
Farmacia para optar por el grado académico de Licenciatura en
Farmacia y el título profesional de Doctor en Farmacia**

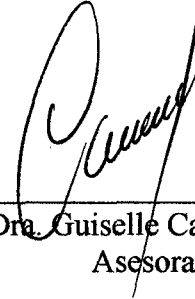
GUSTAVO SÁENZ GARCÍA

JULIO, 1999

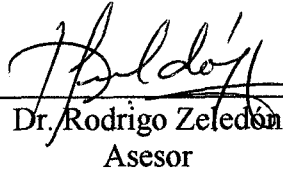
Esta Tesis fue aceptada por el Tribunal Examinador Designado por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Facultad de Farmacia para optar por el grado académico de Licenciatura en Farmacia y el título profesional de Doctor en Farmacia, el cual estuvo conformado por:



Dr. Jorge Andrés Pacheco
Director



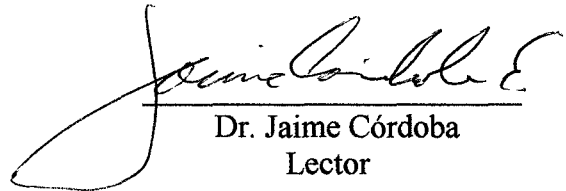
Dra. Guiselle Carbonell
Asesora



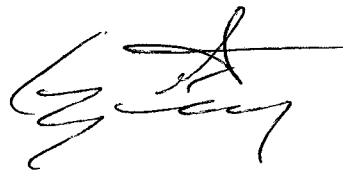
Dr. Rodrigo Zeledón
Asesor



Dra. Lidieth Fonseca
Lectora



Dr. Jaime Córdoba
Lector



Gustavo Sáenz García
Tesiario

A mis padres que me dieron la vida y me enseñaron el correcto camino para vivirla.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de compartir con gente que a lo largo de mi vida me ha enseñado tanto.

Deseo agradecer profundamente al Dr. Jorge Andrés Pacheco por su sabia y acertada dirección durante la realización de este estudio.

A la Dra. Guiselle Carbonell por su guía y amistad.

Al Dr. Rodrigo Zeledón por su anuencia a la revisión de esta investigación.

A todo el personal de LAYAFA por su buena disposición para colaborar durante la realización de este estudio.

A la Dra. María Monge por sus consejos y permisos para dedicar tiempo a la toma de muestras.

A la Dra. Alexandra Alvarado y personal de la farmacia Sta. María por facilitar la compra del producto utilizado durante la realización de esta investigación.

A mis amigos Jorge Camacho y Rebeca Arias por su apoyo incondicional. En general, a todos los que me han brindado su amistad y consejo a lo largo de estos años y especialmente a quien estuvo a mi lado y apoyó en el inicio de esta investigación.

RESUMEN

La asociación de ácido Retinoico (AR) e Hidroquinona (HQ) en preparaciones dermatológicas está indicada en el tratamiento de hiperpigmentación a un proceso oxidativo, indicando su escasa estabilidad. En este estudio se pretende evaluar la acción de varios agentes antioxidantes y materiales de acondicionamiento para mejorar la estabilidad de estas preparaciones.

Se comparó durante tres meses el grado de oscurecimiento de las preparaciones realizadas frente a un control sin antioxidantes, empleando 5 productos comerciales a base de AR y adicionando HQ 1 % y antioxidantes solos o en combinación y en presencia o ausencia de EDTA. El metabisulfito de sodio demostró una gran eficacia para evitar el oscurecimiento de dos de las preparaciones, mientras que con dos de los productos comerciales de AR no fue posible obtener una estabilidad satisfactoria.

Se realizó durante tres meses un estudio cuantitativo de la descomposición de AR y de HQ en preparaciones que contenían metabisulfito de sodio, envasadas en tubos de aluminio con revestimiento interno y frascos plásticos de polietileno. Se concluyó que la estabilidad en preparaciones magistrales de AR asociado con HQ puede variar considerablemente en función del producto comercial de AR que se utilice, el antioxidante empleado y eventualmente del material de acondicionamiento. Sólo una preparación presentó una descomposición menor al 10 % sobre lo etiquetado a los 2 meses. Se recomienda no dar un plazo de validez mayor a dos meses a este tipo de preparaciones.

ÍNDICE

Introducción	1
Objetivos	2
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	
Ácido Retinoico	4
Hidroquinona	6
Asociación Ácido Retinoico e Hidroquinona en una formulación magistral	7
Oxidación	7
Antioxidantes	9
Farmacología de la Asociación Hidroquinona y Ácido Retinoico	10
Formulaciones Magistrales	13
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS	
Productos comerciales, materiales, equipo y reactivos analíticos	16
Primera etapa	18
Segunda etapa	20
Tercera y Cuarta etapas	21
CAPÍTULO III. RESULTADOS	
Primera Etapa	
1. Determinación de la pureza química de la Hidroquinona	23
2. Acción antioxidante en preparaciones magistrales con productos comerciales de Ácido Retinoico	25
2.1 Resultados gráficos	25
2.2 Selección de las preparaciones para la tercera etapa	30
2.2.6. Criterio de selección	32

Segunda Etapa	
1. Adecuación de métodos analíticos para Ácido Retinoico e Hidroquinona...	34
1.1. Estudio Preliminar	34
1.2. Preparación de soluciones patrón para la calibración	36
2. Resultados	38
Tercera y Cuarta Etapas	
Resultados Cuantitativos durante tres meses de determinaciones	42
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN	46
CAPÍTULO V. RESULTADOS Y CONCLUSIONES	50
APÉNDICES	53
BIBLIOGRAFÍA	64

INTRODUCCIÓN

El estudio de preparados magistrales no ha sido de mucha importancia dentro de la investigación farmacéutica; sin embargo, el estudio de estos productos llama la atención por ser una opción de menor costo pero igualmente efectiva que los productos de marca registrada de despacho común en las farmacias y que han tomado gran auge no sólo en el despacho, por recomendación directa del Farmacéutico, sino que también por la cantidad importante de recetas que llegan a las farmacias dedicadas a la preparación de este tipo de productos. La investigación en cuanto a estabilidad, química o física, material de acondicionamiento, almacenamiento y preparación, entre otros es de gran trascendencia en el continuo desarrollo en el mercado de estos productos.

La asociación de Ácido Retinoico (AR) e Hidroquinona (HQ) en preparaciones dermatológicas está indicada en el tratamiento de hiperpigmentación. En el mercado nacional no existe un producto comercial que contenga ambos principios activos, por lo que los dermatólogos recetan mezclas de productos comerciales de AR a diferentes concentraciones con HQ, las que deben ser preparadas por el Farmacéutico de Comunidad con los medios normalmente disponibles. Estas formulaciones sin embargo, presentan un rápido oscurecimiento debido a un proceso oxidativo, indicativo de su escasa estabilidad.

Es por esta razón que se realizó este estudio, cuyos resultados están orientados para que sean de utilidad en la preparación de aquellas formulaciones magistrales así como en la selección de antioxidantes y materiales de acondicionamiento adecuados para mejorar la estabilidad de estas preparaciones.

Objetivo general:

- Mejorar la estabilidad de formulaciones magistrales de Ácido Retinoico en asociación con Hidroquinona.

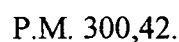
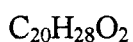
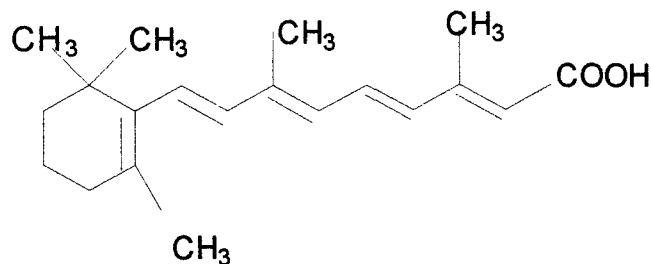
Objetivos específicos:

- Adecuar un método analítico, para la determinación del porcentaje de descomposición frente al tiempo, del Ácido Retinoico y de la Hidroquinona en las preparaciones a estudiar.
- Realizar un estudio comparativo con un criterio organoléptico (oscurecimiento) de una amplia gama de antioxidantes en formulaciones a concentraciones de Ácido Retinoico de 0,01, 0,025, 0,05 % e Hidroquinona al 1 %, con el fin de realizar una selección preliminar.
- Realizar un estudio comparativo con un criterio analítico cuantitativo de las formulaciones seleccionadas.
- Publicar los resultados de este estudio, dándole la máxima difusión, dirigida hacia los profesionales Farmacéuticos y médicos del país.
- Suministrar una base para la realización de estudios posteriores de optimización de otras fórmulas magistrales.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

Ácido Retinoico



Es el ácido 3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-2,4,6,8-nonatetraenoico ; también conocido como ácido de la vitamina A o tretinoína. Se encuentra en su forma todo *trans* (*all-trans*). Sus cristales presentan un color que varía desde amarillo hasta un anaranjado claro. Tiene un punto de fusión 180-182 °C. Presenta un máximo de absorción ultravioleta a una longitud de onda de 351 nm. Se obtiene por oxidación del aldehído de la vitamina A (1).

Está clasificado como queratolítico, sin embargo, la forma 13-cis (isotretinoína) se usa en el tratamiento del acné quístico severo (2).

Se indica el uso de la Tretinoína para la curación del acné en todas sus formas y además para la elastoidosis cutánea nodular.

Las preparaciones de tretinoína deben ser almacenadas en lugares oscuros y en recipientes resistentes a la luz, a temperaturas entre 15-30 °C (3,2).

El mecanismo de acción se ha elucidado en los últimos cinco años. Giguere, sugiere que los retinoides (retinol, ácido retinoico y retinal), juegan un papel esencial en el crecimiento y diferenciación del tejido epitelial, además de ser necesarios en la reproducción, desarrollo embriogénico y crecimiento óseo (4). Todas estas acciones están mediadas por receptores intracelulares de Ácido Retinoico los cuales regulan la expresión genética (5).

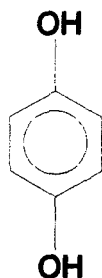
El Centro de Información de Medicamentos de la Facultad de Farmacia reporta los siguientes productos comerciales de ácido retinoico disponibles en Costa Rica, que se resumen a continuación:

Tabla 1
Productos Comerciales de Ácido Retinoico disponibles en Costa Rica

Patente	Forma Farmacéutica	Composición	Fabricante
Retin- A ®	Gel (30 g)	Tretinoína 0,01%	Johnson & Johnson
Retin- A ®	Crema (30 g)	Ác. Retinoico 0,025%	Johnson & Johnson
Retin- A ®	Crema (30 g)	Ác. Retinoico 0,050%	Johnson & Johnson
Tretinoína	Gel (20 g)	Ác. Retinoico 0,025%	Lisan
Eudyna ®	Crema (20 g)	Ác. Retinoico 0,050%	Nordmarck-Werke
Retacnil ®	Crema (30 g)	Tretinoína 0,025 %	Galderma
Retacnil ®	Crema (30 g)	Tretinoína 0,050 %	Galderma

Fuente: Centro de Información de Medicamentos, UCR, enero de 1998

Hidroquinona



Es el 1,4 Bencenodiol (*p*-dihidroxibenceno). Se obtiene por oxidación de la anilina con dicromato de sodio y ácido sulfúrico, y tratamiento posterior con bisulfito (6) o por reducción de la quinona (7). Los cristales tienen un punto de fusión de 170-171 °C y una gravedad específica de 1,332. Es soluble en 14 partes de agua, muy soluble en alcohol, éter y ligeramente en benceno. Su solución expuesta al aire se torna café debido a la oxidación; ésta es pronunciadamente más rápida en presencia de álcali. Las preparaciones que la contengan deben ser preferiblemente ácidas (pH 4-6) (8). Se recomienda mantener la Hidroquinona bien guardada y en lugares protegidos de la luz. Está clasificada terapéuticamente como un despigmentador. Se utiliza también como reductor y revelador fotográfico (2).

En 1975 se observó que un producto formulado como bloqueador solar era usado por algunas mujeres con fines decolorantes de la piel con buenos resultados; luego de unos estudios en su fórmula, se encontró la presencia de Hidroquinona. El efecto de este producto terminaba al discontinuar su uso (9).

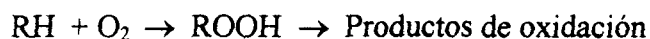
Según Denton, Lerner y Fitzpatrick la Hidroquinona inhibe totalmente la oxidación enzimática de la tirosina a 3,4- dihidroxifenilalanina (DOPA) (10). Años después, Iijima y Watanabe encontraron que la Hidroquinona inhibe la reacción histoquímica de la DOPA y postularon su acción directa sobre la tirosinasa (11, 12).

Asociación de Ácido Retinoico e Hidroquinona en un producto Farmacéutico.

Esta asociación terapéutica se descubrió por casualidad, cuando Kligmann y Willis reportaron el caso de una serie de pacientes a quienes se les diagnosticó ocronosis después de haber sido tratados con una crema de Hidroquinona. Estos pacientes después se trataron con corticosteroides tópicos con el fin de aliviar la ocronosis. Sin embargo, el resultado no fue el esperado y además se produjo acné, el cual se trató con una solución de tretinoína al 0,05 %, presentándose una satisfactoria evolución de todas las patologías (13).

Oxidación

La estabilidad de fármacos propensos a oxidarse puede verse influenciada por el oxígeno atmosférico. Se dice, entonces, que ocurre autooxidación cuando la sustancia es atacada por el oxígeno molecular.



Esta reacción suele ocurrir de forma espontánea, siendo favorecida por trazas de iones metálicos o de radical hidroperóxido (14, 15).

La Hidroquinona es muy propensa a oxidarse por ser un *p*-difenol (16). Desde 1830 se conoce la autooxidación, pero no fue sino hasta la década de los 50 que se estableció el mecanismo de reacción por radicales libres (14,15,17,18).

Los radicales libres son átomos o moléculas que poseen un par de electrones desapareados (19).

En la mayoría de las reacciones de autooxidación se pueden identificar tres fases:

- **Iniciación** $RH \rightarrow R\bullet$ (radical libre)
- **Propagación** $R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$
 $ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$
- **Terminación** $2ROO\bullet \rightarrow \text{Productos Estables}$

Para todas las reacciones descritas existen constantes que según sus magnitudes, afectan la velocidad de la reacción total (14).

Lachman refiere que las reacciones de autooxidación evolucionan por reacción en cadena, pues el producto inicial del sustrato y el oxidante, posee una energía mucho mayor que el promedio de energía de los componentes para la temperatura a la cual se realiza la reacción; los choques entre estos productos iniciales y las moléculas sin reaccionar propagan esta fuerza a las demás y así se desencadena la reacción (20).

Al representar gráficamente este tipo de procesos se obtiene una figura sigmoidea con una pendiente pequeña en el proceso de iniciación la cual aumenta dramáticamente en la fase de propagación y luego disminuye nuevamente en la fase de terminación.

La luz es capaz de promover reacciones químicas al transferir la energía presente en los fotones a las moléculas del fármaco. La adquisición de esta energía proporciona a las moléculas mayor energía potencial que disminuye su estabilidad, favoreciendo la posibilidad de procesos reactivos como la autooxidación.

La autooxidación, como todas las reacciones de degradación, es indeseable en productos Farmacéuticos. Desafortunadamente existen fármacos más propensos a ser oxidados y no siempre se dispone de métodos sencillos de predicción del fenómeno de autooxidación para un producto Farmacéutico dado. Muchos de los elementos de iniciación pueden pasar inadvertidos mezclados en los excipientes o debido a las condiciones de envase (14).

Cuando un fármaco se oxida a 25 ° C, su estabilidad es influenciada por el oxígeno presente en el espacio vacío del envase o disuelto en los disolventes de la preparación.

Antioxidantes

Los antioxidantes o inhibidores de la oxidación rompen la cadena de reacciones absorbiendo la energía en exceso de los productos de reacción o actuando como reductores (20).

Los antioxidantes son sustancias que, añadidas en pequeña cantidad a los productos, retardan las reacciones de oxidación. En formulaciones farmacéuticas, se usan para proteger al fármaco o los excipientes del deterioro autooxidativo (14). A pesar de que muchos compuestos tienen acción antioxidante, son relativamente pocos los que se han usado en formulaciones farmacéuticas, pues existe poca información sobre su toxicidad, aunado al altísimo costo de los estudios toxicológicos requeridos para la aprobación de una sustancia como antioxidante.

Antioxidantes Fenólicos

Este grupo de compuestos son a veces llamados antioxidantes primarios o verdaderos. Los más comúnmente usados en la formulación de productos Farmacéuticos son el butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) y los tocoferoles (Vitamina E) . Otros antioxidantes de este grupo son el ácido nordihidroguayarático (NDG) y el galato de propilo.

La efectividad de los productos antioxidantes radica en que se logra un aumento del período de inducción de la reacción de autooxidación, además de disminuir el proceso de formación de peróxido, el cual, como se explicó anteriormente, es un paso determinante de la reacción de autooxidación. La cantidad de antioxidante requerida se encuentra generalmente de forma empírica. En muchos casos, cuanto más antioxidante se agregue mayor será el grado de protección del producto; sin embargo, en otros casos, se produce la aceleración del proceso de oxidación a concentraciones altas de antioxidante (14).

El mecanismo de inhibición del proceso de autooxidación se explica por la formación de un intermediario $R\bullet$ (radical libre) a partir de RH en el proceso de iniciación, seguido del proceso de propagación con la reacción del intermediario y O_2 para formar $ROO\bullet$ (radical peróxido). Este producto, al reaccionar con el sustrato inicial RH, produce $R\bullet$ y ROOH como productos, estableciéndose así, la cadena de reacciones de oxidación que desestabilizan el producto Farmacéutico. Si al momento de la formación del radical peróxido $ROO\bullet$ éste reacciona con un sustrato que se oxida más fácilmente, como los antioxidantes fenólicos, se limita la posibilidad de oxidación del fármaco. Esto se explica por la presencia de un enlace O-H débil en el antioxidante fenólico, con la consecuente formación de un producto oxidado R-O \bullet . Para que un antioxidante sea efectivo necesita eliminar la presencia del ión peróxido y así romper el paso determinante de la cadena de oxidación. Esta eliminación se logra mediante reacciones diversas que conducen a productos que detienen la reacción en cadena (14,15).

Si otra sustancia antioxidante estuviera presente en la formulación, ésta reaccionaría con el radical formado por el primer antioxidante en su reacción con el peróxido y lo regeneraría, transfiriendo un átomo de hidrógeno, desde el segundo antioxidante al primero. Este proceso de deslocalización de los radicales mejora la eficiencia en el rompimiento de la cadena de reacciones. Cuando esta combinación de antioxidantes resulta en un aumento de la eficiencia del efecto antioxidante se le llama a ésta una combinación sinérgica. Se pueden obtener mezclas de este tipo incorporando no sólo otro agente antioxidante fenólico sino también sustancias reductoras como ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, metabisulfito sódico, y otros compuestos. Los agentes quelantes como EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y ácido cítrico también actúan como agentes sinérgicos (14).

Antioxidantes Reductores

Este tipo de antioxidantes actúan de una manera preventiva, pues son fácilmente oxidados y / o sufren autooxidación. Todos consumen oxígeno por lo que, protegen al fármaco y a los excipientes. Algunos agentes reductores como el ácido ascórbico, el palmitato de ascorbilo, bisulfito, metabisulfito y sulfito de sodio son capaces de descomponer peróxidos y de romper reacciones de oxidación en cadena (14).

Agentes Quelantes o Secuestrantes

Pequeñas cantidades de iones metálicos, como se discutió anteriormente, pueden catalizar el proceso de iniciación de las reacciones de autooxidación. Una estrategia particularmente efectiva para disminuir este efecto, es la adición de agentes quelantes a la formulación. El agente secuestrante por excelencia, usado en la práctica farmacéutica, es el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) o sus sales. Este agente es usado en combinación con antioxidantes fenólicos, por su efecto sinérgico (14, 15, 16).

Una de las razones por las que se usa muy frecuentemente en formulaciones, es por la pequeña cantidad que se necesita para obtener resultados efectivos (entre 0,002 a 0,05%).

Otras formas de inhibición de la autooxidación

Ciertos procedimientos de envase que evitan la presencia de oxígeno, como el llenado en atmósfera de nitrógeno, contribuye a mejorar la estabilidad durante el almacenaje de productos fácilmente atacados por el oxígeno atmosférico (14).

El mantenimiento de un producto en refrigeración con el fin de disminuir la posibilidad de oxidación, no es un método efectivo en la reducción de la velocidad de reacción.

La forma aniónica de ácidos débiles como fenoles, ácido carbónico y tioles es generalmente más oxidable que la forma neutra, por lo que una disminución en el pH en

presencia de estas sustancias puede reducir la cantidad de fármaco en su forma aniónica y en consecuencia aminorar la oxidación.

En aquellos casos en que la luz juegue un papel importante en la descomposición de los fármacos, se recomienda la utilización de material de acondicionamiento primario que los proteja de la fotooxidación (14). La USP define a los recipientes de vidrio o plástico resistentes a la luz, como aquellos que no permiten el paso de más de un 10 % de la luz incidente para cualquier longitud de onda entre 290 nm y 450nm.

Farmacología de la Hidroquinona y del Ácido Retinoico.

La aplicación tópica de Hidroquinona en animales aumenta la producción de melanina de los melanocitos; se cree que causa el mismo efecto en humanos (21). Según otros autores, la Hidroquinona inhibe la enzima tirosinasa y también previene la conversión de tirosina a melanina (22).

En piel sana, el Ácido Retinoico produce una reacción inflamatoria, resultando en acantosis y paraqueratosis. Altas concentraciones del fármaco pueden causar severos daños y vesiculaciones en la piel. Se ha reportado que la aplicación tópica de tretinoína al 1 % promueve la cicatrización de heridas y aumenta la velocidad de acción de los agentes anti-inflamatorios. En animales, la aplicación tópica de tretinoína ha demostrado un efecto reparador del daño en la piel inducido por radiación UV ; este efecto parece ser el resultado de un aumento en número y actividad de los fibroblastos y de la formación de colágeno. También reduce la degradación de colágeno por inducción de los inhibidores de colagenasa. En humanos, los estudios realizados hasta la fecha, indican que el uso de tretinoína tópica revierte parcialmente el daño causado por fotoexposición de la piel en términos histológicos y clínicos. Estos cambios histológicos en la piel, originados por la terapia de tretinoína tópica, incluyen: una apariencia morfológica normal y un aumento del grosor de la piel ; una reducción de la queratosis microscópica, una disminución de la

dispersión de los gránulos y del contenido de melanina, un descenso de la compactación del estrato córneo y una disminución de la formación de colágeno en la dermis papilar . Además se ha observado un aumento en la angiogénesis y en la exfoliación. Algunos de los cambios clínicos incluyen la reducción de pliegues finos (arrugas) en la piel y una mejoría de su coloración (21) .

Formulaciones Magistrales

En el año 1946, el Dr. Indalecio Sáenz, se refirió a la farmacia magistral en los siguientes términos (23) :

“La farmacia magistral es el área de la farmacia que enseña la forma en que se hacen las preparaciones de fórmulas cuya técnica no se especifica en las referencias oficiales y que necesitan de la enseñanza del maestro. Las preparaciones magistrales se dividen en industriales y manuales, propiamente hablando. Las primeras se realizan no en la farmacia, sino en laboratorios especialmente equipados para su producción; por el contrario, las manuales, las prepara el Farmacéutico en el establecimiento, cada vez que se le ordene, es decir, debe alistarlas de manera rápida y manual usando los utensilios corrientes y sencillos con los que cuenta en su despacho; por lo que se les llama preparaciones magistrales extemporáneas.”

El autor, otrora profesor de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica, se introduce en un mundo casi ajeno para la mayoría de los estudiantes de farmacia de la época actual, la Farmacia Magistral extemporánea, hacia adonde los resultados de este estudio se quieren orientar. Esta práctica requiere, no sólo de un gran cúmulo de conocimientos, sino también de sumo cuidado en su ejecución, así como de destreza y habilidad.

Cuando en nuestro país, el Farmacéutico tenía el deber de preparar remedios y dosificarlos, él sabía que tenía la obligación de procurarse buenas drogas y preparaciones. Sin embargo, cuando gran cantidad de fármacos le llegaban ya preparados y dosificados, el objeto primordial de la farmacia se amplió y se redefinió como el servicio que puede prestar al público salvaguardando el manejo, la preparación y la venta de sustancias

medicinales (24). Debido a este cambio de panorama la farmacia magistral extemporánea ha ido perdiendo participación en el desarrollo de la práctica farmacéutica pues, conforme a través del tiempo ha aumentado la producción y la presencia de laboratorios industriales en el país, la necesidad de preparaciones magistrales se ha visto opacada por la disposición de formulaciones, con un mayor control sobre algunos parámetros que se le escapan de las manos al Farmacéutico que las prepara en su establecimiento, como son : período de vencimiento, estabilidad física y química, colores y sabores más agradables y variados, entre otros. Esta tendencia ha ido en aumento, luego de la aparición de los antibióticos durante la segunda guerra mundial, cuando se dio la revolución de la Industria Farmacéutica.

En Costa Rica, a pesar de la gran cantidad de productos de patente, la práctica de la farmacia magistral extemporánea no ha dejado de tener importancia en el pueblo que, como costumbrista que es, no olvida a aquel Farmacéutico de los inicios de siglo, el cual desempeñaba un papel no sólo de consejero y despachador de medicamentos sino que también en muchos casos, cumplía labores de maestro, dirigente social y sicólogo, entre otros , de los que todavía se encuentran algunos pocos en zonas alejadas de los centros de población.

Las preparaciones magistrales extemporáneas, en nuestro tiempo, se conciben como una opción, igualmente efectiva pero con un costo significativamente más bajo ; además de que algunas, como la del presente estudio, no tienen semejanza entre los preparados industriales. Por esta razón, este estudio pretende aportar una solución a un problema que enfrentan en nuestro país los Farmacéuticos que deben preparar formulaciones magistrales de Hidroquinona y Ácido Retinoico.

Es beneficioso para el cumplimiento de uno de los objetivos de esta investigación el hecho de que en el país, a través del tiempo, la preparación de formulaciones magistrales se ha ido limitando a unas cuantas Farmacias, por lo que los resultados de este estudio serán de gran utilidad para aquellos profesionales que a parte de su labor en regencia, dedican tiempo a la preparación de formulaciones magistrales extemporáneas.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Productos comerciales de Ácido Retinoico :

- Retin-A ® gel (tubo 30 g) 0,01 % (**J & J**)
- Retin-A ® gel (tubo 30 g) 0,025 % (**J & J**)
- Retin-A ® gel (tubo 30 g) 0,05 % (**J & J**)
- Tretinoína Lisan gel (tubo 20 g) 0,025 % (**Lisan**)
- Eudyna & crema (tubo 20 g) 0,050 % (**Nordmarck Werke**)

Se corroboró que la fecha de vencimiento de estos productos al momento de utilizarse estuviera a como mínimo un año de distancia de su utilización en este estudio.

2. Hidroquinona (**Merck, Darmstadt**)

3. Antioxidantes fenólicos

- Butilhidroxianisol (BHA)(**Eastman Chem. Div. Kingsport, EEUU**)
- Butilhidroxitolueno (BHT)(**Eastman Chem. Div. Kingsport, EEUU**)

4. Agentes reductores

- Ácido Ascórbico (**Merck, Darmstadt**)
- Metabisulfito Sódico (**Merck, Darmstadt**)

5. Agentes Quelantes

- Etilendiaminotetracetato disódico (EDTA disódico) (**Merck, Darmstadt**)

6. Regulador de pH

- Ácido Cítrico (**Merck, Darmstadt**)

7. Material de acondicionamiento

- Frascos viales de vidrio tipo I de 10 ml con cierre elastomérico
- Envases de vidrio de boca ancha
- Envases de Polietileno de boca ancha
- Tubos de aluminio con revestimiento interno

8. Equipo

- Espectrofotómetro UV-Visible. (**Shimadzu 160 V**)
- Estufa de circulación forzada (**Labline Inst. Inc. Imperial 5**)

9. Reactivos analíticos

- **Ácido Sulfúrico 0.1 N (Merck, Darmstadt)**
- **Difenilamina TS (USP) (Matheson Coleman & Bell, New Jersey)**
- **Sulfato Cérico 0.1 N (G. Frederick Smith Chem. Co, Ohio)**
- **Ácido Retinoico estándar secundario (proporcionado por LAYAFA)**
- **Cloroformo (Merck, Darmstadt)**
- **Alcohol isopropílico grado analítico(Merck, Darmstadt)**
- **Agua destilada**

PRIMERA ETAPA

En esta etapa del estudio se observó por un período de tres meses el grado de oscurecimiento que presentan preparaciones al 1 % de Hidroquinona, previamente valorada por el método USP 23, mezclada con cinco productos comerciales de Ácido Retinoico (ver materiales) en presencia de los siguientes antioxidantes :

- BHA 0,02%
- BHT 0,02%
- Metabisulfito de sodio 0,1%
- Ácido Ascórbico 0,05%
- EDTA disódico 0,05%

En todos los casos se adicionó Ácido cítrico 0,01% p/p.

Tabla 2

Matriz Experimental para la selección de antioxidantes en las formulaciones de cada una de las formulaciones con los cinco productos comerciales de Ácido Retinoico a diferentes concentraciones y de Hidroquinona al 1 %.

Sust. Presente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
BHA	√				√				√	√			√	√		
BHT		√				√					√	√			√	√
Ac. Asc.			√				√		√		√		√		√	
Metabis. Na				√				√		√		√		√		√
EDTA di Na					√	√	√	√					√	√	√	√

Se realizaron un total de 80 preparaciones, puesto que se utilizaron 5 especialidades farmacéuticas de Ácido Retinoico, además de los 5 controles preparados con cada producto comercial e Hidroquinona al 1 %, sin adición de antioxidantes y ácido cítrico.

Esta matriz experimental permite evaluar el efecto individual o sinérgico de los antioxidantes fenólicos y reductores en presencia o ausencia de EDTA disódico.

Para preparar estas mezclas se procedió a pesar, en frascos viales de vidrio, una cantidad de 0,99 g de cada especialidad farmacéutica de Ácido Retinoico y se mezcló, empleando

una varilla de vidrio, con 0,01 g de Hidroquinona, la cantidad requerida de antioxidantes y el ácido cítrico, conservando este mismo orden de adición en todos los casos. Los sólidos se trituraron previamente en mortero de vidrio, cada uno por aparte.

Se excluyó el uso de utensilios de metal (p.ej. espátulas) con el fin de reducir a un mínimo la incorporación de iones metálicos en las preparaciones.

Los frascos viales de vidrio fueron cubiertos por papel aluminio, para evitar la fotodescomposición de la Hidroquinona y del Ácido Retinoico. Todas las muestras se mantuvieron en una estufa de circulación forzada protegidas totalmente de la luz, a una temperatura de 30 (± 1) °C.

Todo el proceso de preparación de las mezclas se realizó en condiciones controladas de iluminación (luces apagadas y luz natural indirecta).

El período de observación fue de tres meses, examinando las muestras cada 15 días. El criterio de comparación fue el grado de oscurecimiento con respecto al control correspondiente de cada especialidad farmacéutica, clasificando las muestras en una de las siguientes categorías:

- Mayor oscurecimiento que el control
- Igual al control
- Menor oscurecimiento que el control

SEGUNDA ETAPA

ADECUACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS FARMACÓPEICOS PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDO RETINOICO E HIDROQUINONA EN LAS FORMULACIONES EN ESTUDIO.

1. Hidroquinona

Se utilizó un método espectrofotométrico basado en el descrito en la USP XXII para el análisis de Hidroquinona en una formulación. Se realizó un espectro de absorción que leyó las absorbancias de la muestra desde 600nm hasta 200 nm, para garantizar la ausencia de interferencias, a una longitud de onda de máxima absorbancia de 293 nm, en presencia tanto de los antioxidantes empleados como de las formulaciones de Ácido Retinoico (ver apéndice 1).

De igual manera se realizaron tres determinaciones de Absorbancia, para diferentes soluciones de Hidroquinona de concentración conocida obtenidas mediante un esquema de diluciones apropiado para obtener concentraciones que varíen entre 50 %-120 % de la cantidad sugerida en el método oficial, en presencia de Ácido Retinoico en la proporción de la(s) formulación(es) escogida(s), la determinación de absorbancias se reportó como un promedio de las mediciones realizadas.

2. Ácido Retinoico

Al igual que en el caso anterior, se utilizó un método espectrofotométrico basado en los descritos por la USP XXII para las formas farmacéuticas de gel y crema de Ácido Retinoico; y se realizó un espectro de absorción que leyó las absorbancias de la muestra desde 600 nm hasta 200 nm para descartar la presencia de interferencias a una longitud de onda de máxima absorbancia de 358 nm; en presencia de los antioxidantes empleados como de los componentes y de la Hidroquinona (Ver apéndices 1 y 2).

De igual manera se realizaron determinaciones de Absorbancia, para diferentes soluciones Ácido Retinoico según lo descrito por el método oficial, mediante un esquema de diluciones que permitiera obtener concentraciones entre 50%-120% de la cantidad recomendada en el método oficial, en presencia de Hidroquinona en la proporción de la(s) formulación(es) escogida(s).

TERCERA ETAPA

De acuerdo a los resultados obtenidos a lo largo de los tres meses de estudio de la primera etapa, se seleccionaron las formulaciones que presentaron en todo momento menor oscurecimiento que el control y que fueron adecuadas para la correcta preparación de la formulaciones magistrales.

Se preparó la cantidad necesaria de cada una de las formulaciones escogidas de la forma descrita anteriormente, y se analizaron para cuantificar por métodos espectrofotométricos las concentraciones iniciales de AR y de HQ según los métodos oficiales, los cuales fueron adecuados para el estudio. Así mismo, se realizó un espectro de absorción de las muestras. Este análisis se repitió a intervalos de 15 días durante tres meses.

Con este estudio se pretendió establecer con un criterio cuantitativo, cuál formulación presenta una descomposición más lenta de los principios activos.

CUARTA ETAPA

Esta etapa se realizó paralela a la tercera pues, estudió el efecto del material de acondicionamiento sobre la estabilidad de la formulación seleccionada en la tercera etapa. Se comparó la formulación envasada en tubos de aluminio con el envasado en frascos de polietileno con tapa hermética.

La metodología analítica fue la misma empleada en la tercera etapa del estudio.

CAPÍTULO III

RESULTADOS

PRIMERA ETAPA

1. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LA PUREZA QUÍMICA DE LA HIDROQUINONA USADA.

Se usaron dos lotes de Hidroquinona diferentes por lo que se debieron analizar ambos para así conocer su calidad. A continuación se presentan los resultados de dichas determinaciones:

Tabla 3

Datos de Estadarización de la solución de sulfato cérico VS.

	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
Muestra (g)	0.6252	0.6265	0.6266
Volumen consumido (ml)	21.1	21.0	21.0
NORMALIDAD	0.1066	0.1073	0.1073

Normalidad prom.= 0.107 N

Tabla 4

Datos de Valoración HQ₁.

	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
Muestra (g)	0.250	0.251	0.250
Volumen consumido (ml)	42.15	42.35	42.65
Pureza	100.25	100.32	99.85

Pureza prom.= 100.14 %

Debido a que se conservó la solución de Sulfato de Cerio y se comprobó que su Normalidad era la misma, debido a su alta estabilidad, se utilizó esta misma solución para realizar la valoración de la Hidroquinona en el segundo lote, cuyos resultados se presentan seguidamente:

Tabla 5
Datos de Valoración de HQ₂.

	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
muestra (g)	0.2544	0.2516	0.2532
Volumen consumido (ml)	43.1	42.2	43.0
Pureza	100.74	99.73	100.98

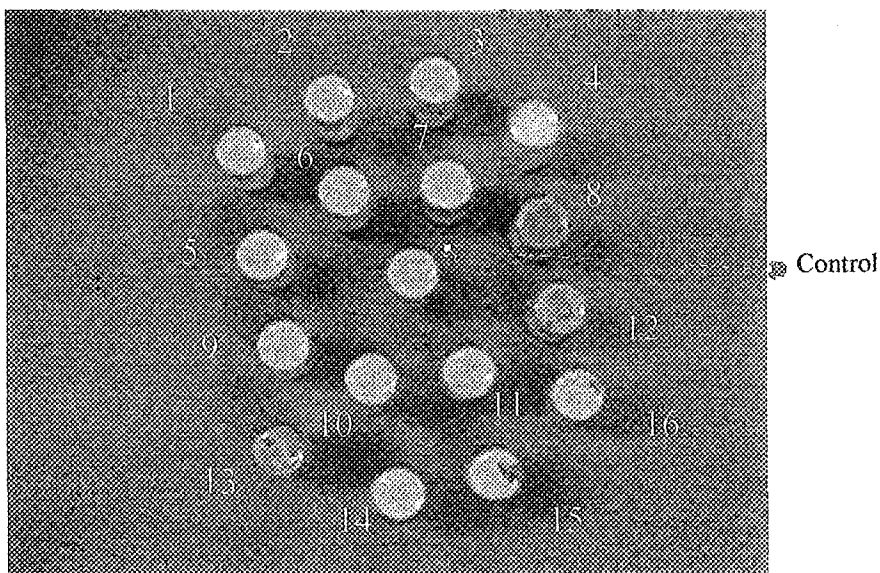
Pureza prom.= 100.48 %

2. RESULTADOS CUALITATIVOS DE LA ACCIÓN DE DIFERENTES ANTIOXIDANTES SOLOS O EN COMBINACIÓN, SOBRE CINCO PREPARACIONES MAGISTRALES REALIZADAS CON DIFERENTES PRODUCTOS COMERCIALES.

2.1 Resultados gráficos de la primera etapa

Figura 1

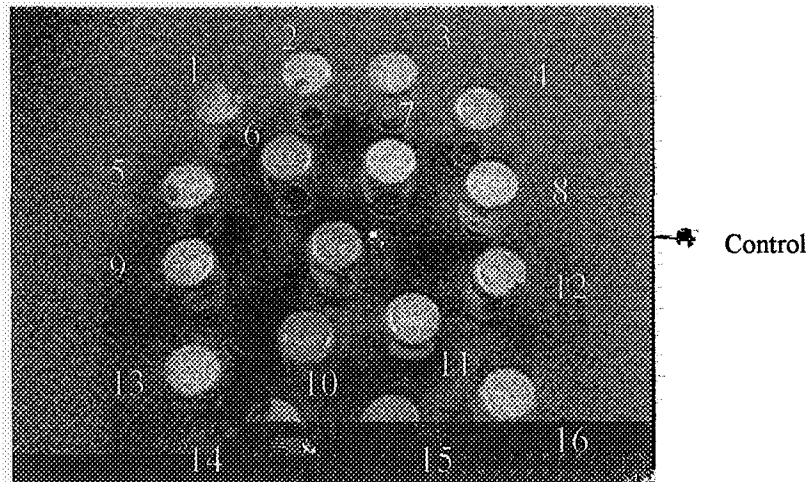
Aspecto final de las preparaciones de Retin-A @ 0.05 % crema con Hidroquinona al 1 %, al final de los tres meses de observación en la primera etapa de estudio.



La evolución de las muestras culminó con un oscurecimiento mayor al del control en las preparaciones 8, 12 y 13, menor que el control en la 4 y en los demás casos el oscurecimiento fue igual al del control. Se observa como, bajo las condiciones de este estudio para este producto, solamente la utilización de metabisulfito de sodio mejoró la estabilidad frente a la oxidación (ver apéndice 3, tabla 1).

Figura 2

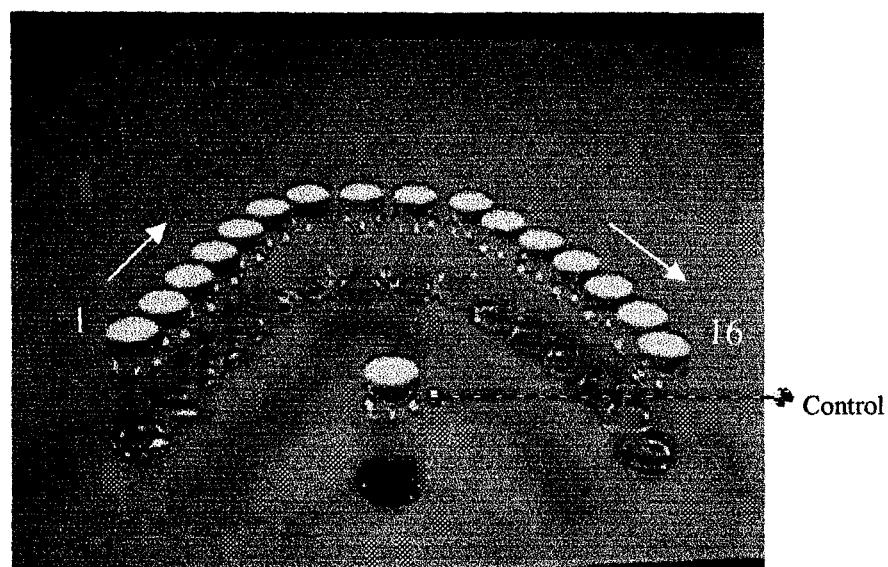
Aspecto final de las preparaciones de Retin-A ® 0.025% crema con Hidroquinona al 1 %, al final de los tres meses de observación en la primera etapa de estudio.



El proceso de oxidación se retardó en casi todas las preparaciones, pues sólo en la 1, 10 y 15 se observó un oscurecimiento igual al del control y en ningún caso se observó un oscurecimiento mayor (ver apéndice 3, tabla 2).

Figura 3

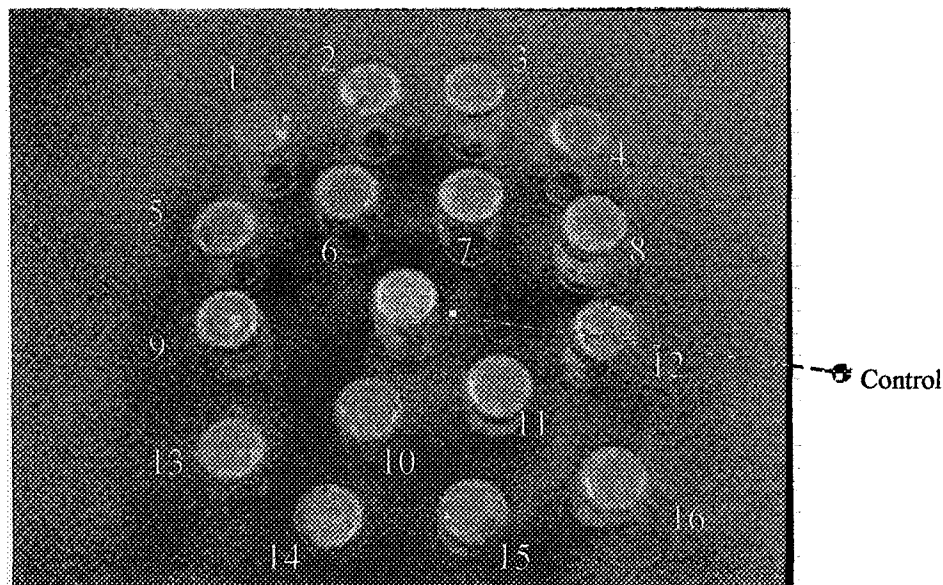
Aspecto final de las preparaciones de Tretinoína (producto genérico) 0.025% gel con Hidroquinona 1 % al final de los tres meses de observación en la primera etapa de estudio.



Para estas preparaciones, se observa que la presencia de los antioxidantes, retardó en todos los casos el proceso de oxidación de las preparaciones. Por este motivo no hubo duda en incluirlo en la siguiente etapa del estudio (ver apéndice 3, tabla 3).

Figura 5

Aspecto final de las preparaciones de Eudyn-A @ 0.05 % crema con Hidroquinona 1 % al final de los tres meses de observación en la primera etapa de estudio.



Se observa en todas las preparaciones un grado de oscurecimiento mayor que el control, indicando que en ningún caso los antioxidantes fueron eficaces para retardar la degradación de la Hidroquinona y que por el contrario se presenta un efecto acelerador, el cual se manifiesta desde las primeras semanas de observación (ver apéndice 3, tabla 5).

2.2 Selección de las preparaciones a estudiar en la tercera etapa (estudio cuantitativo)

2.2.1 Hidroquinona al 1 % con Retin A @ 0,050% crema

El metabisulfito de sodio mostró una mayor eficacia antioxidante, al cabo de 3 meses en comparación a los otros antioxidantes. Sin embargo, la combinación de este mismo antioxidante con EDTA y con BHT, en vez de presentar un sinergismo antioxidante, ocasionó una aceleración del proceso.

También se observó una aceleración del proceso al cabo de 3 meses con la combinación BHA + Ácido Ascórbico + EDTA.

Los demás antioxidantes y combinaciones de éstos no presentaron ninguna eficacia antioxidante por comparación con el control.

Por todo lo anterior se seleccionó la formulación de la preparación número 4 (ver anexo 3) para la siguiente etapa del estudio.

2.2.2 Hidroquinona al 1 % con Retin A @ 0,025 % crema

En estas preparaciones el efecto antioxidante se presentó con:

BHT

Ácido Ascórbico

Metabisulfito de sodio

BHA + EDTA

BHT + EDTA

Ácido Ascórbico + EDTA

Metabisulfito de sodio + EDTA

BHA + Ácido Ascórbico

BHT + Ácido Ascórbico

BHT + Metabisulfito de sodio

BHA + Ácido Ascórbico + EDTA

BHA + Metabisulfito de sodio + EDTA

BHT + Metabisulfito de sodio + EDTA

En los otros casos no hubo muestras de eficacia del sistema antioxidantes empleado.

Por lo expuesto anteriormente, cualquiera de estas combinaciones podrán ser objeto de estudio cuantitativo.

2.2.3 Hidroquinona al 1 % con Tretinoína (producto genérico) 0,025% gel

En todos los casos se observó eficacia de los antioxidantes por comparación con el control. Además el grado de oscurecimiento de esta preparación fue mínimo (ver figura 3). Por esta razón todas las preparaciones con esta especialidad podrían ser susceptibles de un estudio cuantitativo posterior.

2.2.4 Hidroquinona al 1% con Retin A ® 0.01% gel

En todos los casos se observó eficacia de los antioxidantes por comparación con el control. Sin embargo, el oscurecimiento es notable en todas las preparaciones, dándoles un aspecto inaceptable e indicando una degradación química importante por oxidación (ver figura 4), además de que el gel perdió su consistencia al momento de realizar la preparación magistral.

Por esta razón no se realizaron estudios posteriores con preparaciones con Retin A ® 0,01% gel.

2.2.5 Hidroquinona al 1% con Eudyn A ® 0,05% crema

En ningún caso se observó eficacia alguna de los antioxidantes en estudio al utilizar esta especialidad farmacéutica.

Por esta razón no se efectuaron estudios posteriores con ella.

2.2.6 Criterio de selección utilizado

Se descartaron totalmente las preparaciones de HQ 1 % con Retin A ® 0,01% gel y con Eudyn A ® 0,05% crema, porque ningún antioxidante sólo o en combinación, produjo algún efecto significativo en la estabilidad de la preparación, en comparación con el control utilizado y debido a los problemas de pérdida de viscosidad que presentaron las preparaciones realizadas con Retin A ® 0,01% gel.

Por otro lado, las preparaciones de HQ 1 % con Retin A en concentraciones de 0,05 % y 0,025%, así como la preparación de HQ 1% con Tretinoína (producto genérico) 0,025%, mostraron todas ellas eficacia antioxidante del metabisulfito de sodio, produciendo al final de los tres meses una acción estabilizante significativa bajo los criterios del análisis.

A continuación se presentan las fórmulas escogidas:

Retin A ® 0,05 % crema con Hidroquinona 1%

Hidroquinona _____	1 %
Metabisulfito de sodio _____	0.1 %
Ácido cítrico _____	0.01 %
Retin A ® 0,05 % crema _____	98.89 %

**Retin A ® 0,025 % crema con
Hidroquinona 1%**

Hidroquinona _____	1 %
Metabisulfito de sodio _____	0.1 %
Ácido cítrico _____	0.01 %
Retin A ® 0,025 % crema _____	98.89 %

Tretinoína 0,025 % gel con Hidroquinona 1%

Hidroquinona _____	1 %
Metabisulfito de sodio _____	0.1 %
Ácido cítrico _____	0.01 %
Tretinoína 0,025 % gel _____	98.89 %

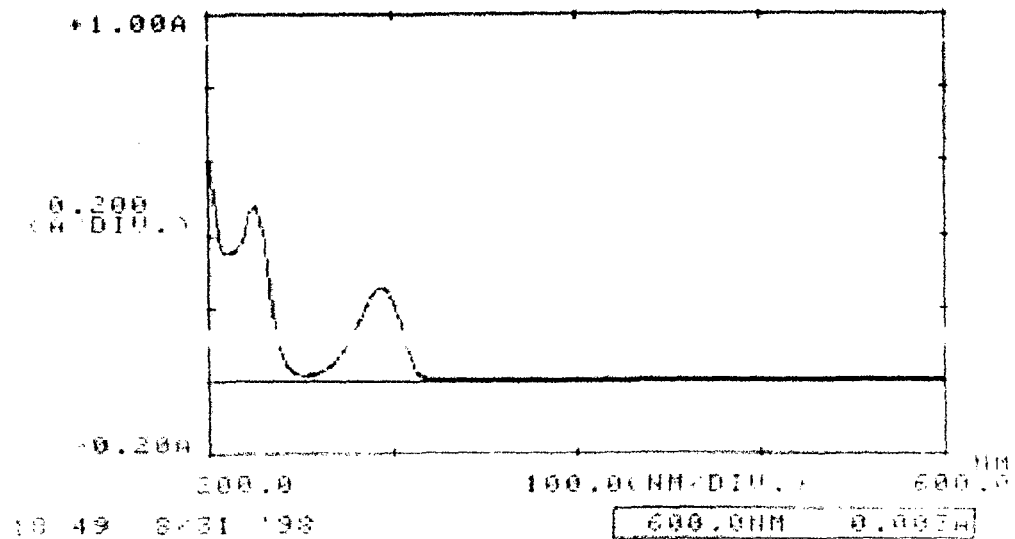
SEGUNDA ETAPA

1. ADECUACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS FARMACÓPEICOS PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDO RETINOICO E HIDROQUINONA EN LAS FORMULACIONES EN ESTUDIO.

1.1 Estudio Preliminar

Con el objetivo de poder analizar cuantitativamente las muestras que se estudiarán en las etapas tres y cuatro, se procedió a ejecutar un barrido espectrofotométrico de Hidroquinona (293 nm max. abs) estándar en metanol. Figura que se observa a continuación:

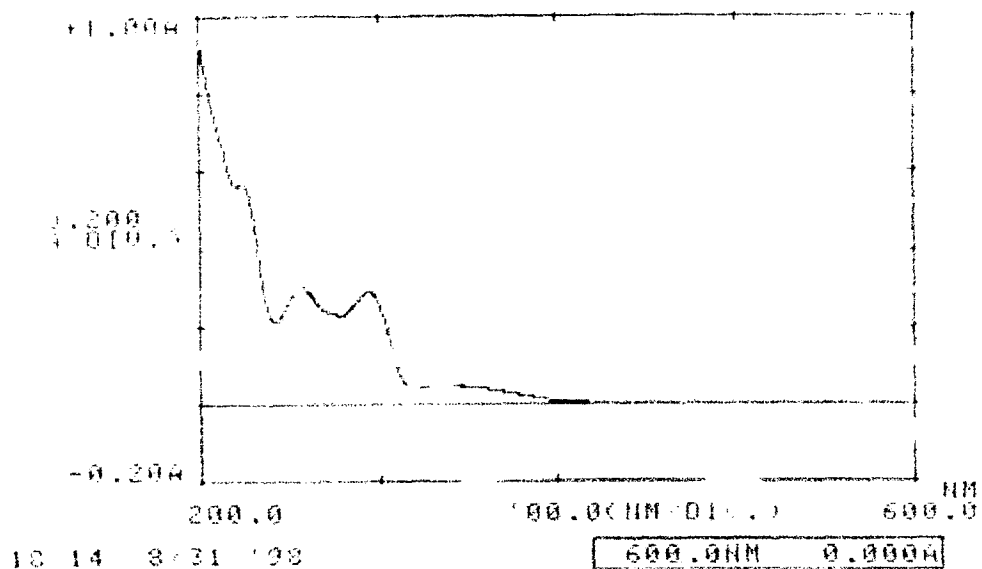
Figura 6
Barrido espectrofotométrico de Hidroquinona ($\lambda_{\text{max}} = 293 \text{ nm}$)



De igual manera se hizo un espectro de la Hidroquinona en presencia de Ácido Retinoico (358 nm max. abs), en metanol, desde 200 hasta 600 nm para comprobar la inexistencia de traslapes de absorbancia, que pudieran traer problemas posteriormente. A continuación se muestra la figura:

Figura 7

Barrido espectrofotométrico de Hidroquinona en presencia de Ácido Retinoico



Al observar ambos espectros de absorción, se determina que para las longitudes de máxima absorbancia de cada una de las sustancias en estudio (HQ 293 nm, AR 358 nm) los picos de máxima absorbancia se pueden diferenciar adecuadamente.

Posterior a esto, se procedió a hacer una curva de calibración para cada una de las preparaciones elegidas en la etapa anterior. Cada una de ellas se estableció utilizando el método propuesto en el capítulo II.

Las figuras 8 y 9 muestran el esquema de diluciones empleado para realizar dicho procedimiento de calibración.

1.2 Preparación de soluciones patrón para la calibración.

Figura 8

Esquema de Preparación de las soluciones, para realizar las curvas de calibración de cada una de las preparaciones escogidas para la segunda etapa del estudio; con AR a la concentración de cada preparación y variación de HQ desde 50 % a 120 % de la cantidad de muestra a tomar, según monografía USP XXII.

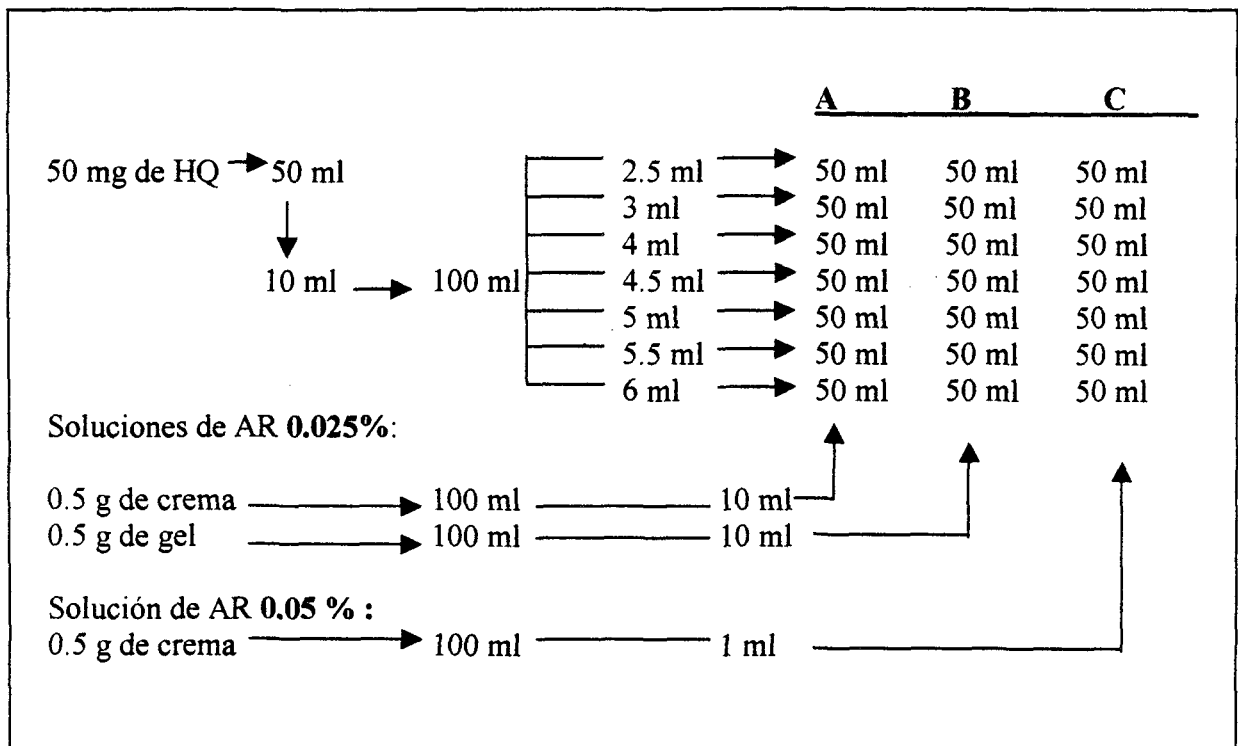
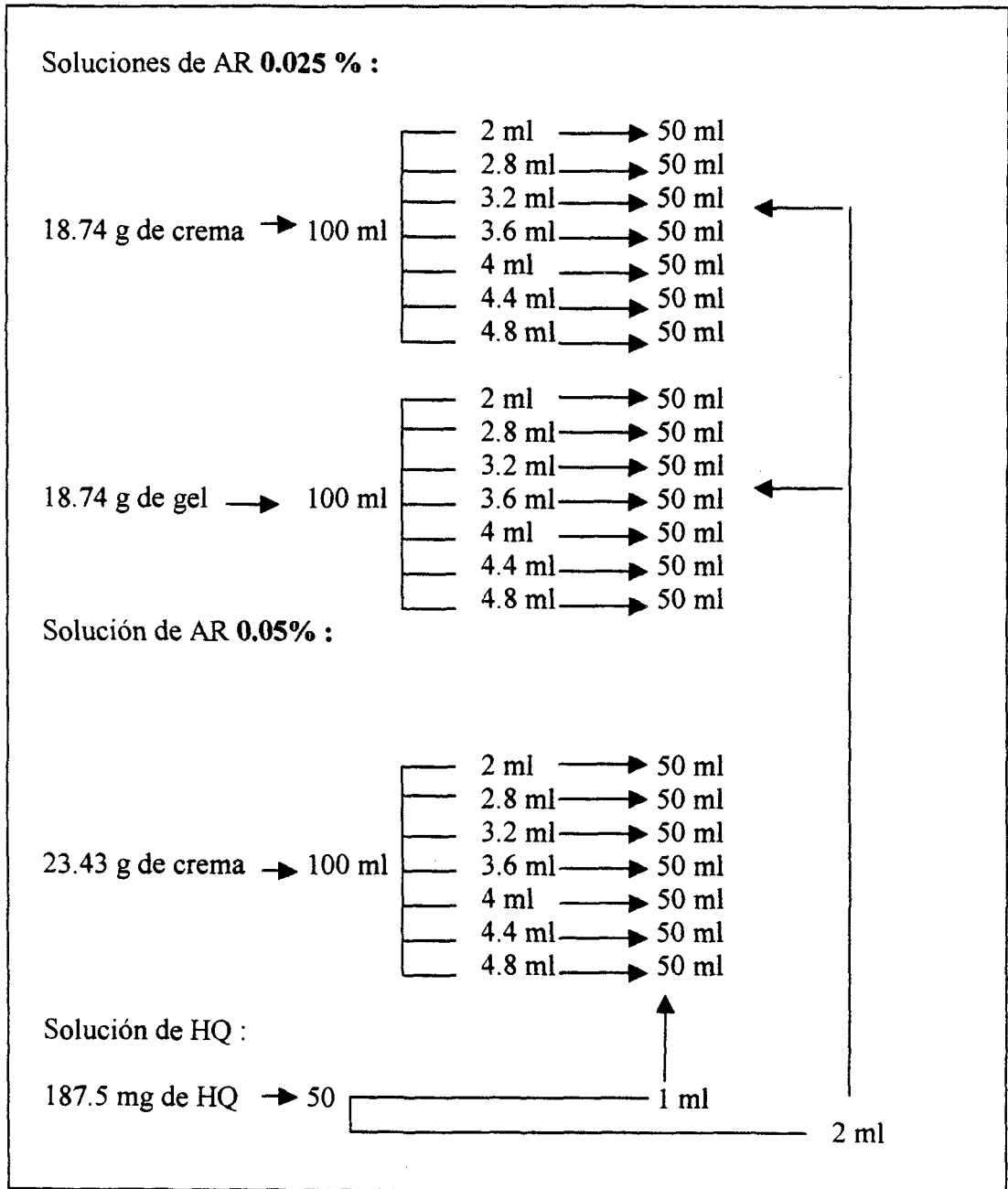


Figura 9

Esquema de Preparación de las soluciones, para realizar las curvas de calibración de cada una de las preparaciones escogidas para la segunda etapa del estudio; con HQ 1 % y variación de AR desde 50 % a 120 % de la cantidad de muestra a tomar, según monografía USP XXII.



2. RESULTADOS

Figura 10

Curva de calibración de Retin A ® 0.05 % e Hidroquinona a concentraciones de 50 % - 120 %, de la cantidad recomendada para el análisis oficial.

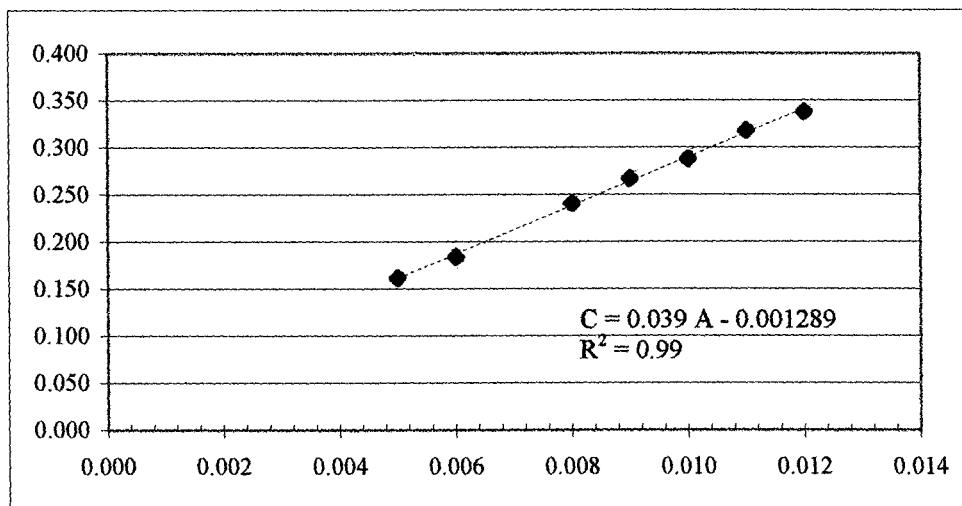


Figura 11

Curva de calibración de Retin A ® 0.025 % e Hidroquinona a concentraciones de 50 % - 120 %, de la cantidad recomendada para el análisis oficial.

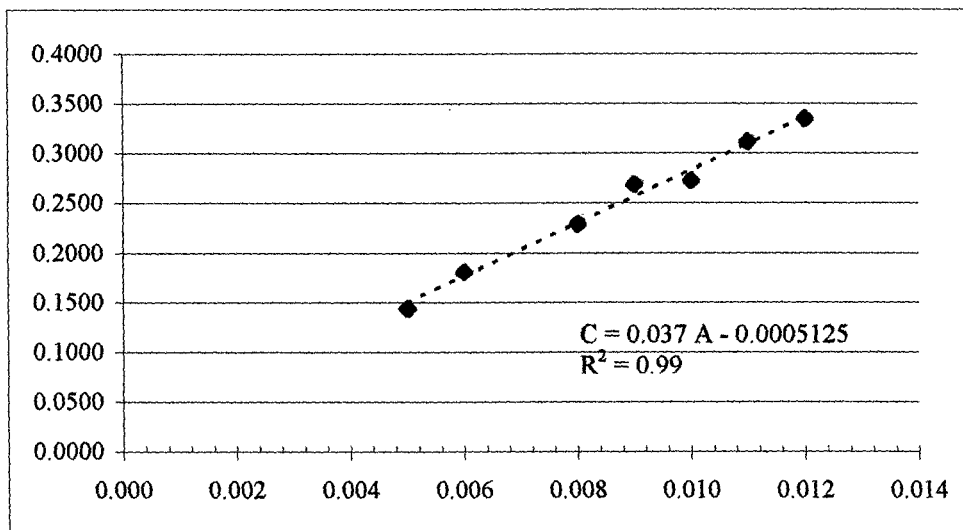


Figura 14

Curva de calibración de Retin A @ 0.025 % a concentraciones de 50 % - 120 %, de la cantidad recomendada para el análisis oficial, e Hidroquinona al 1 %.

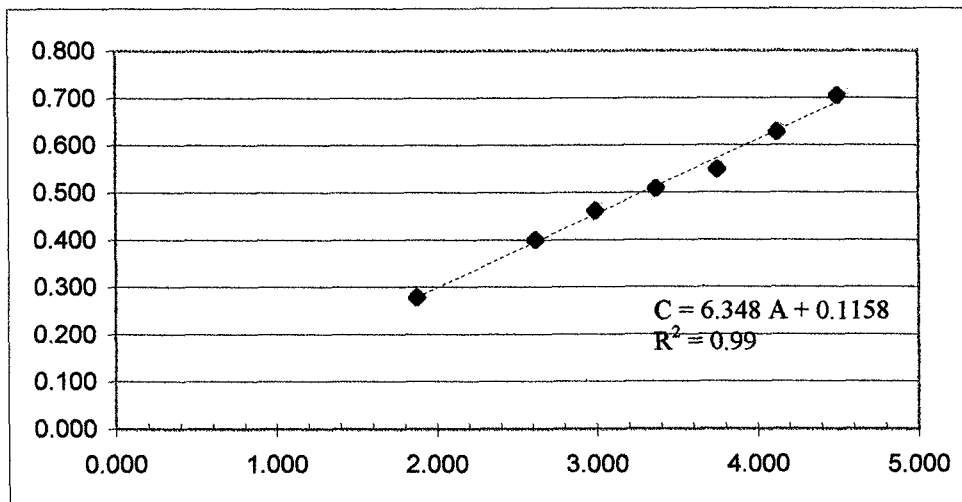


Figura 15

Curva de calibración de Tretinoína 0.025 % a concentraciones de 50 % - 120 %, de la cantidad recomendada para el análisis oficial, e Hidroquinona al 1 %.

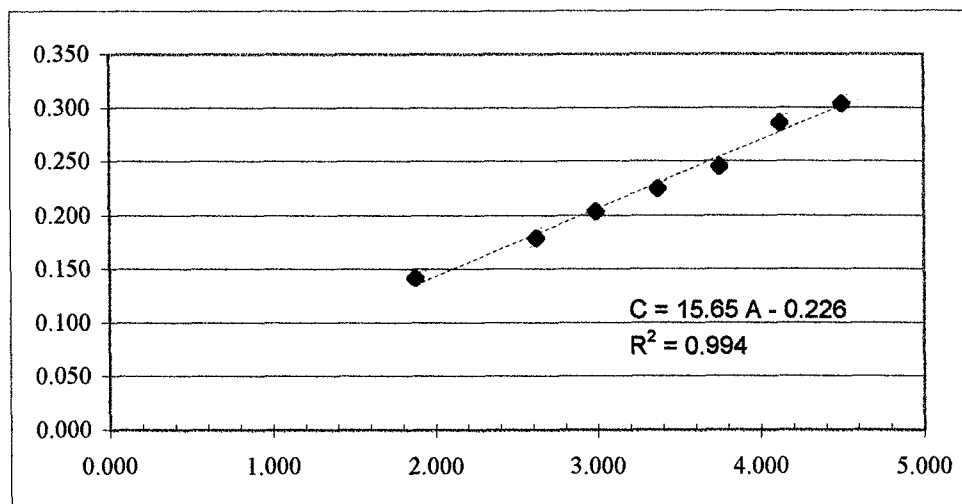


Figura 16

Cambios de concentración de HQ para la preparación de Tretinoína 0.025% crema con Hidroquinona 1 %, durante los tres meses de estudio.

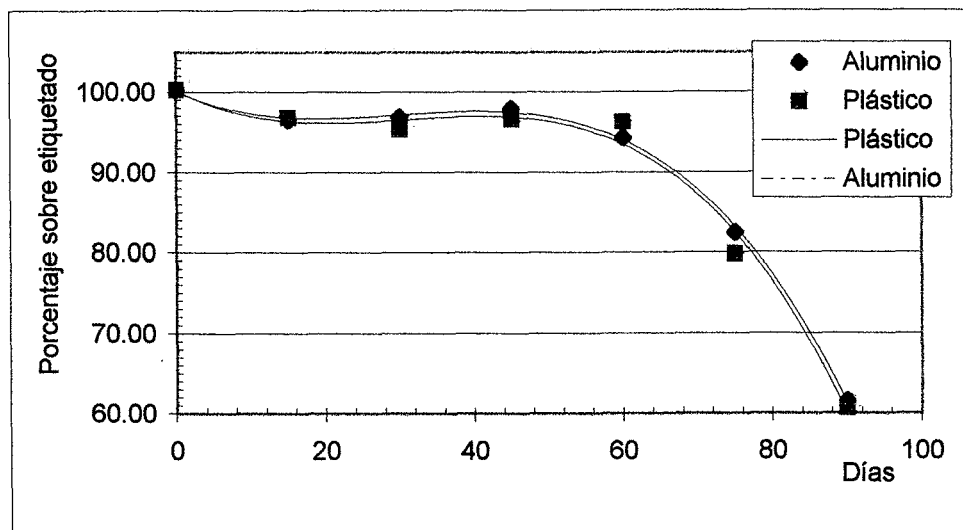


Figura 17

Cambios de concentración de HQ para la preparación de Retin A 0.025% crema con Hidroquinona 1 %, durante los tres meses de estudio.

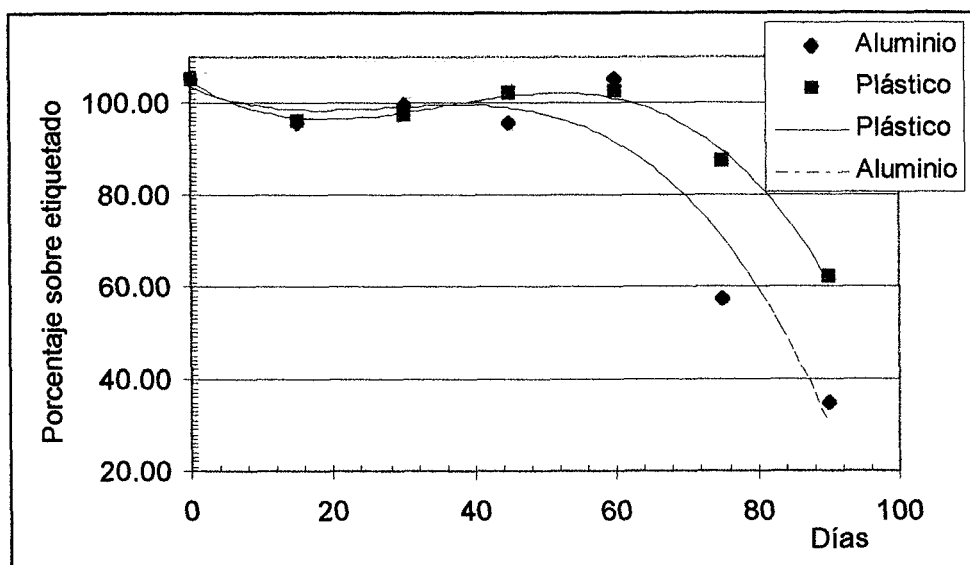


Figura 18

Cambios de concentración de HQ para la preparación de Retin A 0.05% crema con Hidroquinona 1 %, durante los tres meses de estudio.

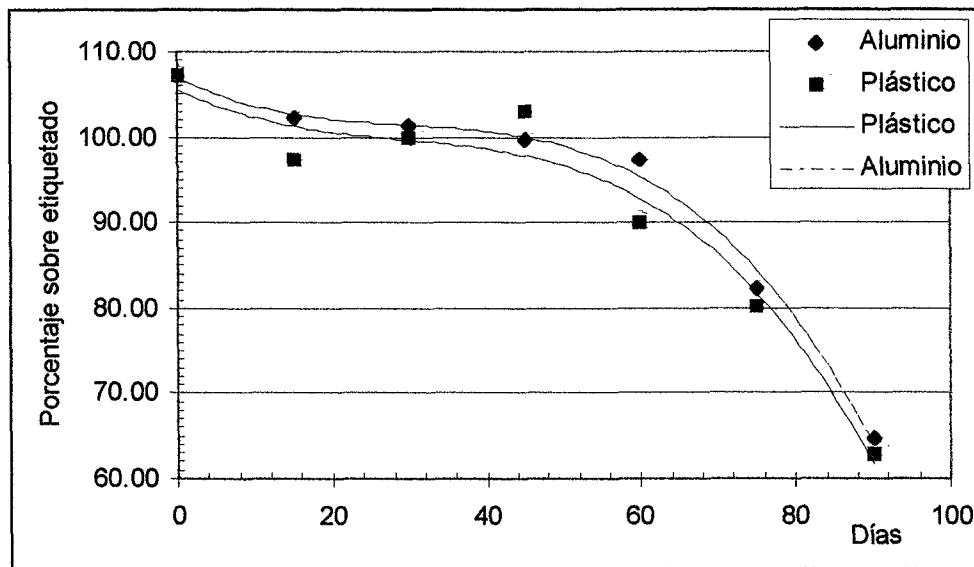


Tabla 5

Porcentajes de contenido de AR y Porcentajes sobre lo etiquetado de AR durante los tres meses de estudio cuantitativo.

Tiempo (días)		Tretinoína		Retin A 0,025% crema		Retin A 0,050 % crema	
		Aluminio	Plástico	Aluminio	Plástico	Aluminio	Plástico
0	% AR	0.0256	0.0256	0.0273	0.0273	0.0564	0.0564
	% etiq.	102.40	102.40	109.27	109.27	112.70	112.70
15	% AR	0.0061	0.0062	0.0235	0.0247	0.0536	0.0528
	% etiq.	24.55	27.75	93.96	98.86	107.16	105.51
30	% AR	0.0054	0.0066	0.0241	0.0218	0.0505	0.0495
	% etiq.	21.60	26.35	91.62	87.15	100.94	98.91
45	% AR	0.0051	0.0069	0.0254	0.0233	0.0573	0.0477
	% etiq.	20.56	24.74	92.30	93.32	96.30	95.41
60	% AR	0.0044	0.0056	0.0211	0.0257	0.0462	0.0452
	% etiq.	17.67	22.57	84.25	90.55	92.43	90.40
75	% AR	0.0036	0.0050	0.0220	0.0248	0.0495	0.0444
	% etiq.	14.20	20.01	87.86	89.40	87.92	88.80
90	% AR	0.0031	0.0045	0.0243	0.0233	0.0551	0.0427
	% etiq.	12.35	18.00	76.34	85.01	84.53	85.35

Figura 19

Cambios de concentración de AR para la preparación de Tretinoína 0.025% crema con Hidroquinona 1 %, durante los tres meses de estudio.

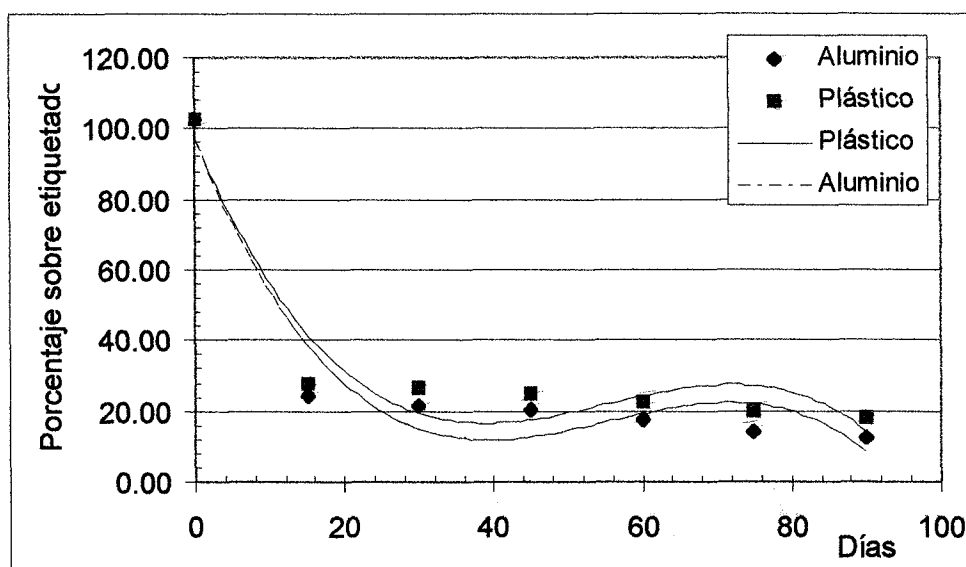


Figura 20

Cambios de concentración de AR para la preparación de Retin A 0.025% crema con Hidroquinona 1 %, durante los tres meses de estudio.

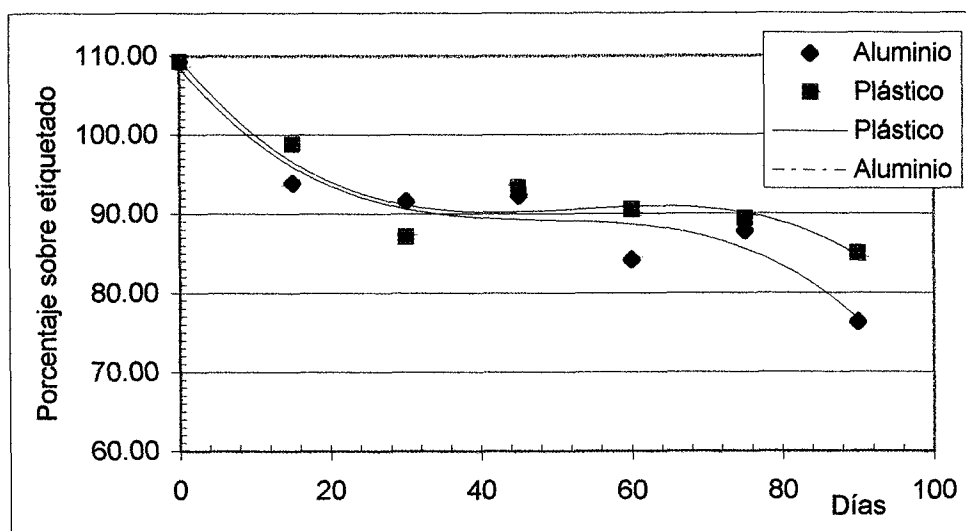
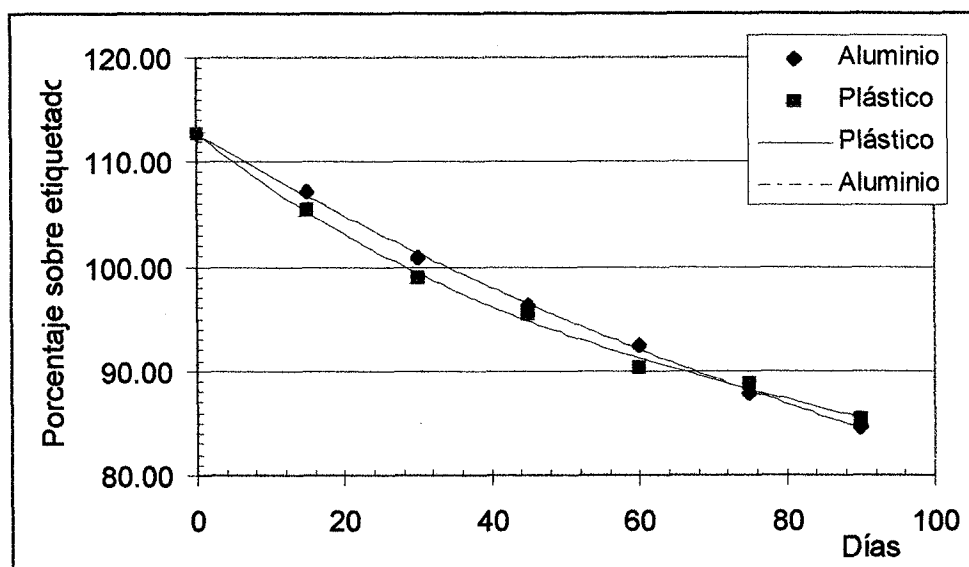


Figura 21

Cambios de concentración de AR para la preparación de Retin A 0.050% crema con Hidroquinona 1 %, durante los tres meses de estudio.



CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Se podría decir que la inestabilidad de las preparaciones magistrales es un fenómeno frecuente en este tipo de formulaciones farmacéuticas, por lo que muchas veces es muy difícil encontrar formulaciones con una estabilidad comparable a la de los productos farmacéuticos elaborados bajo técnicas, procesos y controles industriales.

La utilización de productos comerciales en la preparación de formulaciones magistrales presentan el inconveniente, para quien las prepara, de que no se conoce la formulación cuali-cuantitativa del producto de marca a pesar de que éste sea aceptado en la práctica, en la preparación de productos farmacéuticos de forma magistral. La manipulación de la formulación, que podría realizar el farmacéutico con el fin de variar las características físico-químicas del producto, se ve truncada ante la imposibilidad de predecir interacciones, o algún otro tipo de inconvenientes que sí podría manipular conociendo la totalidad de la formulación.

El uso de agentes antioxidantes en las formulaciones que presentan inestabilidad frente a la oxidación, es útil en el tanto se tenga claro que, si bien estas sustancias retardan el proceso; debido a su irreversibilidad, es imposible revertir su efecto sobre el producto farmacéutico. Sin embargo, se ha comprobado en este estudio que algunos agentes antioxidantes o combinaciones de estos aceleran el proceso de oxidación, al utilizarlos en formulaciones basadas en diferentes productos comerciales (cremas y geles) de Ácido Retinoico con adición de Hidroquinona y ácido cítrico.

Algunas incompatibilidades pueden tener lugar en el momento de mezclar un producto comercial con alguno de los ingredientes de la preparación magistral, sin que ello implique necesariamente la degradación inmediata del principio activo, aunque sí puedan presentarse problemas de cambio de viscosidad, homogeneidad y separación de fases entre otros. Precisamente, en la formulación basada en Retin-A® 0.01 % gel con Hidroquinona 1 %, ácido cítrico 0.01 % en presencia de diferentes antioxidantes solos o en combinación se presentó la pérdida total de la consistencia del gel, lo que muy probablemente se pueda explicar debido a que el pH disminuye por adición del ácido cítrico, lo que haría que el

carbopol, base de la estructura del gel, recupere la forma ácida, la cual fue neutralizada durante la producción industrial del gel para que esta adquiera su consistencia gelificada. En un gel, cuyo contenido de agua es elevado, la cantidad de oxígeno disuelto será considerablemente mayor que en una crema. Esto debe tomarse en cuenta al considerar la estabilidad del Ácido Retinoico y de la Hidroquinona en una formulación magistral, al usar como producto comercial de Ácido Retinoico en gel en vez de una crema. Esto explica en parte la inestabilidad observada en la formulación de Tretinoína (producto genérico) 0.025% gel con Hidroquinona 1 %, ácido cítrico 0.01 % y metabisulfito de sodio 0.1%.

Se sabe que la influencia del oxígeno en la degradación del Ácido Retinoico es tan grande que el proceso de envasado de este producto en su forma pura debe efectuarse en atmósfera de nitrógeno (26, 27).

Durante la última determinación cuantitativa de Hidroquinona y Ácido Retinoico al cumplirse los tres meses, en la formulación de Retin-A® 0.025 % crema con Hidroquinona 1 %, ácido cítrico 0.01 % y metabisulfito de sodio 0.1%, se determinó un olor desagradable característico de productos sulfurados. Al tratar de dar una explicación a este fenómeno, se debe pensar que la reacción del metabisulfito con el aluminio del tubo podría ocasionar la formación de productos de descomposición con este olor característico. El metabisulfito de sodio podría difundir a través del revestimiento del tubo, o a través de fisuras microscópicas difíciles de detectar, pudiendo reaccionar con el aluminio generando compuestos sulfurados que originaron el olor detectado. Sin embargo, no se puede asegurar que este tipo de formulación y envase sea la única combinación que podría presentar los productos de degradación antes mencionados.

Como se ya se dijo, al inicio de esta discusión, se está en presencia de un proceso de oxidación tanto de la Hidroquinona como del Ácido Retinoico en las formulaciones magistrales. Esto queda claramente demostrado al analizar las representaciones gráficas de las tablas 4 y 5, pues se observan perfectamente las tres fases de los procesos de oxidación, descritas por Lachman: iniciación, propagación y terminación (20), que se manifiestan por

la forma característica de “S” invertida de las gráficas de % por descomponer frente a tiempo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. La estabilidad de las preparaciones magistrales de Hidroquinona con Ácido Retinoico presenta una gran variabilidad dependiendo del producto comercial de Ácido Retinoico utilizado.
2. El agente antioxidante metabisulfito de sodio 0.1% permite que el grado de oscurecimiento con respecto a un control sin antioxidante sea menor en preparaciones magistrales de Hidroquinona 1 % y formulaciones de Ácido Retinoico al 0.025% (Retin-A ® crema y Tretinoína gel) y al 0.05% (Retin-A ®) en cantidad suficiente para un 100% de preparación, además de ácido cítrico 0.01%.
3. Las formulaciones preparadas con Retin-A ® 0.01 % gel en cantidad suficiente para 100 %, Hidroquinona 1 %, ácido cítrico 0.01 % presentaron a lo largo de los tres meses de estudio un notable grado de oscurecimiento, además de que su viscosidad disminuyó de manera extrema, perdiendo totalmente la consistencia de gel.
4. Las formulaciones preparadas con Eudyn-A ® 0.05 % crema en cantidad suficiente para 100 %, Hidroquinona 1 %, ácido cítrico 0.01 % y todos los antioxidantes y combinaciones de éstos no presentaron en ningún momento durante los tres meses de observación un grado de oxidación menor que el control.
5. Se logró comprobar que, mediante el método de análisis utilizado para cuantificar las concentraciones de Ácido Retinoico y de Hidroquinona, no se presenta interferencia en las absorbancias de ambos componentes.

6. La cuantificación de Hidroquinona a través de los tres meses de observación, demostró que para los tres productos en estudio (Tretinoína 0.025 % gel (producto genérico), Retin-A ® 0.025 % crema, Retin-A ® 0.05 % crema), la concentración de Hidroquinona se mantuvo por encima del 90 % de lo etiquetado durante dos meses, tanto en envase de aluminio, como en envase de polietileno.
7. La cuantificación de Ácido Retinoico a través de los tres meses de observación, demostró que solamente para Retin-A ® 0.05 % crema, la concentración de Ácido Retinoico se mantuvo por encima del 90 % de lo etiquetado durante dos meses, tanto en envase de aluminio como en envase de polietileno.
8. El producto comercial Retin-A ® 0.05 % crema permite asegurar un período de validez de dos meses en preparaciones con Hidroquinona al 1 %, Ácido Cítrico 0.01 % y metabisulfito de sodio al 0.1 %, tanto en envase de aluminio como de polietileno.
9. Se recomienda que en las Farmacias se elaboren preparaciones magistrales con hidroquinona bajo condiciones restringidas de iluminación y evitando el contacto con superficies metálicas.
10. Es recomendable efectuar estudios que conduzcan al desarrollo de una preparación magistral estandarizada de Ácido Retinoico que garantice una estabilidad mayor que la estabilidad alcanzable en las combinaciones de Ácido Retinoico con Hidroquinona, empleando productos comerciales de Ácido Retinoico.

APÉNDICES

APÉNDICE 1

ENSAYOS DE CUANTIFICACIÓN

Hidroquinona como materia prima.

Disuelva cerca de 250 mg de hidroquinona, exactamente pesada, en una mezcla de 100 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N. Agregue 3 gotas de difenilamina estándar de prueba (TS), y titule con sulfato cérico estándar volumétrico (VS) hasta que se alcance un punto final de color rojo-violeta. Realice un blanco para las correcciones del caso. Cada ml de sulfato cérico es equivalente a 5,506 mg de hidroquinona (25).

Hidroquinona en la preparación magistral.

Preparación estándar. Disuelva una cantidad necesaria de hidroquinona estándar reactivo (RS) USP en metanol hasta obtener una solución con una concentración de 10 µg / ml.

Preparación de ensayo. Transfiera una porción de la crema exactamente pesada, equivalente a 20 mg de hidroquinona a un beaker de 100 ml. Triture la crema con 50 ml de metanol y filtre el líquido a través de un papel filtro, previamente lavado con metanol, a un frasco volumétrico de 500 ml. Repita la trituración y la filtración. Diluya, lavando el papel filtro, a volumen y mezcle. Pipetee 25 ml de esta solución a un frasco volumétrico de 100 ml, lleve a volumen con metanol y mezcle.

De forma concomitante determine las absorbancias de la *preparación estándar* y de la *preparación de ensayo* en celdas de 1 cm y a una longitud de onda de máxima absorbancia de 293 nm, usando metanol como blanco. Calcule la cantidad de hidroquinona en cada gramo de crema, mediante la fórmula : $2(C/W)(A_u/A_s)$, donde C es la concentración en

$\mu\text{g} / \text{ml}$ de hidroquinona estándar reactivo (RS) USP en la *preparación estándar*, W es el peso en gramos tomados de crema, A_u y A_s son las absorbancias de la *preparación de ensayo* y de la *preparación estándar*, respectivamente (26) .

APÉNDICE 2

ENSAYOS DE CUANTIFICACIÓN

Crema de tretinoína.

Nota : evite la exposición directa a la luz y use cristalería de vidrio ámbar para el siguiente procedimiento.

Transfiera una cantidad exactamente pesada de crema de tretinoína equivalente a 375 μg de de tretinoína, a un recipiente volumétrico de 100 ml y disuelva en cerca de 70 ml de una mezcla de cloroformo y alcohol isopropílico (preparada mezclando volúmenes iguales de cada uno). Diluya a volumen con la misma mezcla de disolventes, agite y centrifugue. Disuelva una cantidad exactamente pesada de tretinoína estándar reactivo (RS) USP en la misma mezcla de disolventes y diluya cuantitavente hasta obtener una solución patrón con una concentración de 3,75 $\mu\text{g} / \text{ml}$. De forma concomitante determine las absorbancias de las dos soluciones en celdas de 1 cm a una longitud de onda de máxima absorbancia de 358 nm, usando la mezcla de cloroformo y alcohol isopropílico como blanco. Calcule la cantidad de μg de tretinoína en la porción de crema tomada, mediante la fórmula $100C(A_u/A_s)$, en la cual C es la concentración en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de tretinoína estándar reactivo (RS) USP en la solución patrón, y A_u y A_s son las absorbancias de la soluciones de la crema y de la solución patrón respectivamente (26).

Gel de tretinoína

Nota : evite la exposición directa a la luz y use cristalería de vidrio ámbar para el siguiente procedimiento.

Transfiera una cantidad exactamente pesada equivalente a 375 μg de gel de tretinoína, a un recipiente volumétrico de 100 ml y disuelva en cerca de 70 ml de cloroformo. Diluya a volumen con cloroformo y mezcle. Disuelva una cantidad exactamente pesada de tretinoína estándar reactivo (RS) USP en cloroformo, y diluya cuantitativamente con cloroformo hasta obtener una solución patrón, con una concentración de 3,75 $\mu\text{g} / \text{ml}$. De forma comitante determine las absorbancias de las dos soluciones en celdas de 1 cm a una longitud de onda de máxima absorbancia de 358 nm, usando cloroformo como blanco. Calcule la cantidad de μg de tretinoína en la porción de gel tomada, mediante la fórmula $100C(A_u/A_s)$, en la cual C es la concentración en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de tretinoína estándar reactivo (RS) USP en la solución patrón, y A_u y A_s son las absorbancias de las soluciones del gel y la solución patrón respectivamente (26).

APÉNDICE 3

Tabla 1

Evolución a través de 3 meses de observación de la formulación magistral de Hidroquinona al 1 % con RETIN-A[®] 0,050 % crema en presencia de diferentes antioxidantes.

	TIEMPO (días)	15	30	45	60	75	90
1	BHA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
2	BHT	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
3	Ác. Ascórbico	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
4	Metabisulfito de Sodio	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	○
5	1 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
6	2 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
7	3 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
8	4 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	●	●
9	BHA + Ác. Ascórbico	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
10	BHA + Metabisulf. De Sodio	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
11	BHT + Ác. Ascórbico	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
12	BHT + Metabisulf. De Sodio	⊙	⊙	⊙	●	●	●
13	9 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	●
14	10 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
15	11 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
16	12 + EDTA	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙

● = Mayor grado de oscurecimiento que el control.

⊙ = Igual grado de oscurecimiento que el control.

○ = Menor grado de oscurecimiento que el control.

Tabla 2

Evolución a través de 3 meses de observación de la formulación magistral de Hidroquinona al 1 % con RETIN-A[®] 0,025 % crema en presencia de diferentes antioxidantes.

	TIEMPO (días)	15	30	45	60	75	90
1	BHA	●	●	⊙	○	⊙	⊙
2	BHT	●	⊙	○	○	○	○
3	Ac. Ascórbico	⊙	⊙	○	○	○	○
4	Metabisulfito de Sodio	⊙	●	⊙	○	○	○
5	1 + EDTA	⊙	⊙	○	○	○	○
6	2 + EDTA	⊙	●	⊙	○	⊙	○
7	3 + EDTA	⊙	⊙	○	○	○	○
8	4 + EDTA	⊙	⊙	○	○	○	○
9	BHA + Ac. Ascórbico	⊙	⊙	○	○	○	○
10	BHA + Metabisulf. De Sodio	⊙	○	⊙	⊙	⊙	⊙
11	BHT + Ac. Ascórbico	⊙	⊙	○	○	○	○
12	BHT + Metabisulf. De Sodio	⊙	⊙	○	○	○	○
13	9 + EDTA	⊙	⊙	○	○	○	○
14	10 + EDTA	⊙	⊙	○	○	○	○
15	11 + EDTA	⊙	○	⊙	⊙	⊙	⊙
16	12 + EDTA	⊙	●	○	○	○	○

● = Mayor grado de oscurecimiento que el control.

⊙ = Igual grado de oscurecimiento que el control.

○ = Menor grado de oscurecimiento que el control.

Tabla 3

Evolución a través de 3 meses de observación de la formulación magistral de Hidroquinona al 1 % con TRETINOINA[®] 0,025 % gel en presencia de diferentes antioxidantes.

	TIEMPO (días)	15	30	45	60	75	90
1	BHA	○	○	○	○	○	○
2	BHT	○	○	○	○	○	○
3	Ác. Ascórbico	○	○	○	○	○	○
4	Metabisulfito de Sodio	○	○	○	○	○	○
5	1 + EDTA	○	○	○	○	○	○
6	2 + EDTA	○	○	○	○	○	○
7	3 + EDTA	○	○	○	○	○	○
8	4 + EDTA	○	○	○	○	○	○
9	BHA + Ác. Ascórbico	○	○	○	○	○	○
10	BHA + Metabisulf. De Sodio	○	○	○	○	○	○
11	BHT + Ác. Ascórbico	○	○	○	○	○	○
12	BHT + Metabisulf. De Sodio	○	○	○	○	○	○
13	9 + EDTA	○	○	○	○	○	○
14	10 + EDTA	○	○	○	○	○	○
15	11 + EDTA	○	○	○	○	○	○
16	12 + EDTA	○	○	○	○	○	○

● = Mayor grado de oscurecimiento que el control.

⊙ = Igual grado de oscurecimiento que el control.

○ = Menor grado de oscurecimiento que el control.

Tabla 4

Evolución a través de 3 meses de observación de la formulación magistral de Hidroquinona al 1 % con RETIN-A[®] 0,01 % gel en presencia de diferentes antioxidantes.

	TIEMPO (días)	15	30	45	60	75	90
1	BHA	○	○	○	○	○	○
2	BHT	○	○	○	○	○	○
3	Ác. Ascórbico	○	○	○	○	○	○
4	Metabisulfito de Sodio	○	○	○	○	○	○
5	1 + EDTA	○	○	○	○	○	○
6	2 + EDTA	○	○	○	○	○	○
7	3 + EDTA	○	○	○	○	○	○
8	4 + EDTA	○	○	○	○	○	○
9	BHA + Ác. Ascórbico	○	○	○	○	○	○
10	BHA + Metabisulf. De Sodio	○	○	○	○	○	○
11	BHT + Ác. Ascórbico	○	○	○	○	○	○
12	BHT + Metabisulf. De Sodio	○	○	○	○	○	○
13	9 + EDTA	○	○	○	○	○	○
14	10 + EDTA	○	○	○	○	○	○
15	11 + EDTA	○	○	○	○	○	○
16	12 + EDTA	○	○	○	○	○	○

● = Mayor grado de oscurecimiento que el control.

⊙ = Igual grado de oscurecimiento que el control.

○ = Menor grado de oscurecimiento que el control.

Tabla 5

Evolución a través de 3 meses de observación de la formulación magistral de Eudyn-A[®] 0,050 % crema en presencia de diferentes antioxidantes.

	TIEMPO (días)	15	30	45	60	75	90
1	BHA	●	●	●	●	●	●
2	BHT	●	●	●	●	●	●
3	Ác. Ascórbico	●	●	●	●	●	●
4	Metabisulfito de Sodio	●	●	●	●	●	●
5	1 + EDTA	●	●	●	●	●	●
6	2 + EDTA	●	●	●	●	●	●
7	3 + EDTA	●	●	●	●	●	●
8	4 + EDTA	●	●	●	●	●	●
9	BHA + Ác. Ascórbico	●	●	●	●	●	●
10	BHA + Metabisulf. De Sodio	●	●	●	●	●	●
11	BHT + Ác. Ascórbico	●	●	●	●	●	●
12	BHT + Metabisulf. De Sodio	●	●	●	●	●	●
13	9 + EDTA	●	●	●	●	●	●
14	10 + EDTA	●	●	●	●	●	●
15	11 + EDTA	●	●	●	●	●	●
16	12 + EDTA	●	●	●	●	●	●

● = Mayor grado de oscurecimiento que el control.

⊙ = Igual grado de oscurecimiento que el control.

○ = Menor grado de oscurecimiento que el control.

Tabla 6
Resultados de acción antioxidante sola y en combinaciones sinérgicas para diferentes formulaciones de Ácido Retinoico con Hidroquinona al cabo de 3 meses de observación.

	Reactivos y Productos	Retin-A gel 0,01 %	Retin-A crema 0,025 %	Retin-A crema 0,05 %	Tretinoína gel 0,025 %	EUDYN-A crema 0,05 %
1	BHA	○	⊙	⊙	⊙	●
2	BHT	○	○	⊙	○	●
3	Ácido Ascórbico	○	○	⊙	⊙	●
4	Metabisulfito de Sodio	○	○	○	○	●
5	1 + EDTA	○	○	⊙	⊙	●
6	2 + EDTA	○	○	⊙	○	●
7	3 + EDTA	○	○	⊙	⊙	●
8	4 + EDTA	○	○	●	○	●
9	BHA + Ác. Ascórbico	○	○	⊙	⊙	●
10	BHA + Metabisulf. De Sodio	○	⊙	⊙	⊙	●
11	BHT + Ác. Ascórbico	○	○	⊙	○	●
12	BHT + Metabisulf. De Sodio	○	○	●	○	●
13	9 + EDTA	○	○	●	⊙	●
14	10 + EDTA	○	○	⊙	○	●
15	11 + EDTA	○	⊙	⊙	○	●
16	12 + EDTA	○	○	⊙	⊙	●

● = Mayor grado de oscurecimiento que el control.

⊙ = Igual grado de oscurecimiento que el control.

○ = Menor grado de oscurecimiento que el control.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lakshmanan, L y cols : Acido Retinoico *Biochem J.* 90, 569,1964 :
2. The Merck Index. 11^a edición, Merck & Co. Inc., Nueva Jersey, 1989 :762-763.
3. Rosenstein, E. El Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 25^a edición, Ediciones PLM S. A., Mexico : 501-503.
4. Giguere, V Retinoic Acid Receptors and Cellular Retinoid Binding Proteins. *Endocrine reviews*, 1994 ; 15 (1) : 61-73.
5. Mangelsdorf, D y cols. Nuclear receptors that identifies a novel retinoic acid response pathway. *Nature*. 1990 ; 345 : 224-229.
6. Gattermann, L.y cols. Die praxis des Organischen Chemikers, Berlin, 1961 : 563-564.
7. *patente US*, 1920 ; 1 322.580.
8. Wilkinson, J.B, Moore, R.J. Cosmetología de Harry . Editorial Díaz de Santos S.A., Madrid, 1990 : 295-297.
9. Kligman.A, y cols. A new formula for depigmenting human skin. *Arch. Dermatol.* 1975 ;11 :147-153.
10. Denton, C y cols. *J. Invest. Dermatol*, 1952 ; 18 : 119
11. Iijima, S, Watanabe, K. *J. Invest. Dermatol*, 1957 ; 28 :1.
12. Denton, C y cols. Bleaching cream for ochronosis. *Arch. Dermatol J.* 1985 ; 88 :121.
13. Kligmann, A, Willis, I. A new formula for depigmenting human skin. *Arch Dematol J.* 1975 ; 111 : 40-48.
14. Swarbick, J, Boylan, JC. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. vol 1. Marcel Deckter Inc., Nueva York, 1991 : 415-446.

15. Connors, K y cols. *Chemical stability of pharmaceuticals*. 2ª edición. Wiley-interscience publication, Nueva York, 1986 : 82-85.
16. Sbarbanti, N. *Estabilidad de Medicamentos*. 1ª edición, El Ateneo, Buenos Aires, 1975 : 32-35.
17. Bolland, JL. *Quart. Rev. Chem. Soc.* 1949 ; 3 :1-21.
18. Bateman, L. *Quart. Rev. Chem. Soc.* 1954 ; 8 :147-167.
19. March, J. *Advanced Organic Chemistry*, 2ª edición, McGraw-Hill, Nueva York, 1977 : 151.
20. Lachman L, *Drug and Cos Ind*,1968 ; Jan-Feb : 90-94.
21. America Hospital Formulary Service 97 Drug information. America Society of Hospital Pharmacists, Inc. EEUU, 1997 : 1285-90.
22. Jimbow.D y cols. Mechanism of depigmentation by Hydroquinone. *J invest. Dermatol.* 1974 ; 62 : 436.
23. Sáenz, I. *Farmacia Magistral Extemporánea*. 1ª edición, Editorial Trejos. San José, 1946 : 5-6, 35-37.
24. Remington. *Farmacia*. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, 1987 : 25-90
25. *The United States Pharmacopeia*. USP 23. The United States Pharmacopeial Convention Inc. Maryland, 1993 : 769,1572.
26. *The United States Pharmacopeia*. USP XXII. The United States Pharmacopeial Convention Inc. Maryland, 1990: 665,666,1390,1391,1392.

27. Vitamin A Acid. Tretinoin. Información técnica de BASF. Ludwigshafen, Alemania.

Setiembre 1976. 68 482/1.