



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

**“Desarrollo de un método para la evaluación de la estabilidad de
medicamentos antigripales por electroforesis capilar”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO

PRESENTA:

GALLARDO MARÍN MÓNICA

ASESOR:

DRA. MARÍA GABRIELA VARGAS MARTÍNEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Desarrollo de un método para la evaluación de la estabilidad de medicamentos antigripales por electroforesis capilar.

Que presenta la pasante: **Mónica Gallardo Marín**

Con número de cuenta: **307227834** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Química**

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 27 de Febrero de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Franco Pérez Arévalo	
VOCAL	Dra. Raquel López Arellano	
SECRETARIO	Dra. María Gabriela Vargas Martínez	
1er. SUPLENTE	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez	
2do. SUPLENTE	Dra. María del Rosario Moya Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

AGRADECIMIENTOS

Si algún nombre no está aquí, no es porque no sean importantes o no hayan aportado algo a mi vida, todas y cada una de las personas que han estado en ella, han sido y serán importantes, porque sin ustedes no habría pasado tantas experiencias.

Este trabajo de tesis está dedicado principalmente a mis padres, hermanas y familiares porque sin todo su apoyo no hubiese podido lograr mis objetivos.

¡TODOS SON DEMASIADO ESPECIALES EN MI VIDA, GRACIAS POR TODO!

A MIS PADRES

Arturo y Maricruz: No hay palabras suficientes que expresen lo agradecida que estoy con ustedes, porque me dieron la vida, porque siempre he tenido su apoyo incondicional en cada momento, porque me alientan a seguir adelante aun cuando me he desanimado, porque han estado cuando los he necesitado y siempre me dieron lo que estuvo en sus manos para poder llegar a ser la persona que soy hoy, **¡LOS AMO CON TODO MI SER!**

A MIS HERMANAS

Fernanda y Marisol: No hay mejor compañía que ustedes, porque mi vida no sería la misma sin su presencia, sin sus cualidades y características tan especiales en cada una, **¡LAS AMO!**

A MIS TIOS, TIAS

Les estaré eternamente agradecida a todos por el apoyo que me han brindado durante toda mi vida, porque con su ejemplo y enseñanzas he aprendido a ser mejor día con día **¡LOS AMO!**

Abelardo, Rosa, Alma, Maricela, José, Abi, Pillo: Estaré siempre agradecida con ustedes por el apoyo que me brindaron durante el tiempo que estudie mi carrera, porque sin su ayuda todo hubiera sido difícil, gracias por brindarme la oportunidad de vivir con ustedes y por todo en lo que me apoyaron.

Tere, Maribel, Fernando, Gerardo, Lupita, Blanca: Muchas gracias por todos sus consejos, por todas las experiencias que he pasado a su lado, por preocuparse por mí, por alentarme a conseguir mis objetivos.

A JAHIR

Por qué llegaste de una forma muy extraña a mi vida, porque me brindas tú apoyo en cada momento, porque crees en mí aun cuando se me acaba la fe, porque hemos creado algo increíble juntos, porque pasamos momentos inigualables, porque podemos tener conversaciones de horas y horas seguidas con diversos temas, porque somos tan iguales y diferentes a la vez **¡TE AMO CON TODO MI CORAZÓN!**

A MIS PRIM@S:

Mario, Lluvia, Pedro, Diego, Brisa, Jorge, Jimena: Gracias por todas esas risas, cariño y experiencias tan simpáticas e incomparables que hemos pasado, siempre que quieran algo luchen por ello ¡LOS AMO!

AL JURADO

Dr. Franco, Dra. Raquel, Dra. Alma, Dra. Rosario: Muchísimas gracias por tomarse el tiempo para revisar este trabajo de tesis, por sus comentarios y correcciones para hacer un mejor escrito.

Dra. Gaby: Infinitas gracias por el apoyo y confianza brindados durante la realización de esta tesis, por sus consejos y enseñanzas.

A MIS AMIGAS

Porque la amistad que tengo con ustedes es una de las mejores y más leales del mundo, ¡LAS QUIERO!

Lucy: Podría hacer de nuevo una tesis con todas las experiencias que hemos tenido juntas, mil gracias por estar a mi lado durante estos años, apoyándome, dándome palabras de aliento, por todas esas locuras tuyas que tanto nos hacen reír, porque cada una de las experiencias que hemos vivido nos han hecho ser como hermanas, porque has estado en cada momento importante a mi lado y que a pesar de la distancia y los distintos caminos que cada una tenemos, has seguido al pie del cañón conmigo.

Sara: Porque las anécdotas más simpáticas nos pasaban estando juntas, como esa bolsa interminable de galletitas o esos días de desvelos son momentos que no cambiaría nunca, muchas gracias por ser una de mis mejores amigas, por apoyarme en esas materias difíciles (orgánica) y por escucharme en los peores días y estar a mi lado apoyándome.

Ángeles, Ceci, Irene, Caro, Edith: Porque a pesar de la distancia, el tiempo que pasamos juntas fue genial, compartir tantas cosas con ustedes como tomarnos sangre en Bioquímica, esos entrenamientos bajo el sol o ir a Tabasco, me hizo pasar unos excelentes momentos a su lado.

A MIS AMIGOS:

Toño, Jonathan, Carlos Aboytes, Miguel: Muchas gracias por compartir tantos momentos conmigo, como esos días de arduo estudio en casa de Toño, los días en que Jonathan intentaba darme clases de cartas o compartía su comida conmigo, nunca olvidare los días en que no sabía qué hacer y Miguel llegaba a salvarme o esos días de laboratorio donde Carlos impedía que me comiera vivo al compañero por no hacer bien las cosas. Muchas gracias a todos por esas platicas tan amenas.

*Life is short. Break the rules,
forgive quickly, kiss slowly,
love truly, laugh uncontrollably,
and never regret anything that made you smile.*

ÍNDICE

1. ABREVIATURAS	7
2. RESUMEN	9
3. INTRODUCCIÓN	10
4. OBJETIVOS	12
4.1 <i>Objetivo General</i>	12
4.2 <i>Objetivos Específicos</i>	12
5. HIPÓTESIS	12
6. MARCO TEÓRICO	13
6.1 <i>Mercado nacional y mundial de los fármacos antigripales</i>	13
6.2 <i>Medicamentos de libre venta (OTC)</i>	15
6.3 <i>Principios activos utilizados en los antigripales</i>	16
6.3.1 <i>Aspirina: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.</i>	17
6.3.2 <i>Acetaminofén (Paracetamol): Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.</i>	18
6.3.3 <i>Clorfeniramina (Clorfenamina): Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.</i>	18
6.3.4 <i>Fenilefrina: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.</i>	19
6.3.5 <i>Dextrometorfano: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.</i>	19
6.3.6 <i>Doxilamina: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.</i>	20
6.3.7 <i>Productos de degradación conocidos de los principios activos en estudio</i>	20
6.4 <i>Estabilidad de Medicamentos</i>	22
6.4.1 <i>Definición de Estabilidad y sus tipos</i>	22
6.4.2 <i>Importancia de las pruebas de estabilidad de los productos terminados</i>	23
6.4.3 <i>Finalidad de las pruebas de estabilidad</i>	23
6.4.4 <i>Panorama general de cómo se realiza una prueba de estabilidad.</i>	23
6.5 <i>Métodos Analíticos Indicativos de Estabilidad</i>	24
6.5.1 <i>Requerimientos a cumplir en la validación.</i>	24
6.5.2 <i>Métodos analíticos reportados para la determinación de los productos de estabilidad de antigripales.</i>	25
6.6 <i>Electroforesis capilar (EC)</i>	27
6.6.1 <i>Descripción general del equipo</i>	28
6.6.2 <i>Bases teóricas de la separación por electroforesis capilar de zona.</i>	29
7. METODOLOGÍA	31
7.1 <i>Equipos</i>	31
7.2 <i>Materiales</i>	31
7.3 <i>Reactivos</i>	31
7.4 <i>Preparación de soluciones para la separación y caracterización de los espectros de absorción de las señales</i>	32
8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	37

8.1	<i>Desarrollo del Método Analítico indicativo de Estabilidad para 16 productos antigripales</i>	37
8.1.1	Estudio de la influencia del pH	37
8.1.2	Estudio de la influencia de la concentración de trietanolamina	38
8.1.3	Estudio de la influencia de la concentración del buffer	39
8.1.4	Separación simultánea de la mezcla modelo de los principios activos y los productos de degradación por electroforesis capilar a las condiciones óptimas.	40
8.2	<i>Resultados del análisis de los 16 antigripales bajo las condiciones óptimas encontradas del método analítico indicativo de estabilidad para los principios activos comerciales y sus productos de degradación.</i>	42
8.3	<i>Estudio de nuevo patrón interno.</i>	59
8.4	<i>Estabilidad de otros medicamentos antigripales.</i>	60
9.	CONCLUSIONES	72
10.	REFERENCIAS	73
11.	ANEXOS	75
Anexo A.	Preparación de soluciones de medición y cálculos realizados.	75
Anexo B.	Espectros de absorción y electroferogramas de cada uno de los PA, PD y PI.	79
Anexo C.	Estudio de la mezcla modelo.	82
Anexo D.	Estudio de ASP-SCF	84
Anexo E.	Estudio de ASP-CC	86
Anexo F.	Estudio de ASP-COZ	88
Anexo G.	Estudio de ASP-NC	94
Anexo H.	Estudio de ASP-ND	96
Anexo I.	Estudio de ASP-CCB	98
Anexo J.	Estudio de XL-3	99
Anexo K.	Estudio de LM6	102
Anexo L.	Estudio de Contact Ultra	104
Anexo M.	Estudio de Vick Pyrena	106
Anexo N.	Estudio de Taylex Flu	109
Anexo Ñ.	Estudio de Desenfriol D	112
Anexo O.	Estudio de la degradación forzada de ASP-SCF con peróxido de hidrogeno al 30%.	114

1. ABREVIATURAS

P	Paracetamol
MC	Maleato de clorfeniramina
BD	Bromohidrato de dextrometorfano
SD	Succinato de doxilamina
CF	Clorhidrato de fenilefrina
Asp	Aspirina (Ácido acetyl salicílico)
BF	Bitartrato de fenilefrina
3-AF	3-Aminofenol
4-AF	4-Aminofenol
CNOx	Clorfeniramina N-Oxidado
DeNOx	Dextrometorfano N-Oxidado
DoNOx	Doxilamina N-Oxidada
TH-4,6	1,2,3,4-Tetrahidro-4,6-dihidroxi-2-metil-isoquinolina
TH-4,8	1,2,3,4-Tetrahidro-4,8-dihidroxi-2-metil-isoquinolina
NF	Norfenilferina
CB	Clorhidrato de bromhexina
ASP	Alka Seltzer Plus
ASP-SCF	Alka Seltzer Plus Severe Cold & Flu
ASP-ND	Alka Seltzer Plus Non Drowsy
ASP-CC	Alka Seltzer Plus Cold & Cough
ASP-CO	Alka Seltzer Plus Cold Original
ASP-NC	Alka Seltzer Plus Night Cold
ASP-COZ	Alka Seltzer Plus Cold Orange Zest
ASP-CCB	Alka Seltzer Plus Cold Cherry Burst
TB	Tabcin
TG	Tabcin gripe
TGF	Tabcin gripe fuerte
TN	Tabcin naranja
PA	Principio activo
PD	Producto de degradación
PI	Patrón interno
PFLU	Placebo Flu
PTD	Placebo todos
PSE	Producto sometido a estabilidad
PC	Producto comercial
tm	Tiempo de migración
M36	36 meses se sometió el producto comercial a estabilidad acelerada 40° C 75 % HR
M3	3 meses se sometió el producto comercial a estabilidad acelerada 40° C 75 % HR
LD	Longitud al detector
LT	Longitud total

HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
MDP	Millones de pesos
DFZA	Degradación forzada
FDA	Food and Drug Administration
USP	United States Pharmacopiedial
EUA	Estados Unidos de América
USD	United States Dollar

2. RESUMEN

Los medicamentos pueden ser clasificados según el tipo de venta en dos grandes categorías: los de venta libre y los medicamentos de venta bajo receta. Los primeros, también conocidos como OTC (siglas en inglés por over the counter) se diferencian de los últimos en que pueden ser adquiridos sin prescripción médica; tal es el caso de los antigripales.

Los antigripales son medicamentos que combinan varias sustancias para aliviar los síntomas del resfriado, catarro o gripe común, entre ellos: estornudos, congestión y/o flujo nasal, cuerpo cortado, lagrimeo, tos y fiebre leve, molestias musculares moderadas, dolor de cabeza e irritación de garganta.

En el presente trabajo se desarrolló un método capaz de separar simultáneamente los principios activos de los productos de degradación de medicamentos antigripales sometidos a estabilidad y, proporcionados por el fabricante (Bayer), ya que mediante las pruebas de estabilidad es como se determina el período límite de validez de un fármaco, es decir, la fecha de caducidad en la cual el medicamento esté en óptimas condiciones para el consumo humano y alcanza los niveles terapéuticos establecidos.

Utilizando la técnica de electroforesis capilar se realizó el desarrollo del método; para lo cual, se hizo el estudio de la influencia de factores como el pH, la concentración de buffer, la adición de aditivos, así como la selección del estándar interno más adecuado. De los estudios anteriores se concluyó que las condiciones óptimas de separación de los 4 principios activos y 6 productos de degradación fueron: utilizar un buffer de fosfatos 149 mM con la adición de trietanolamina hasta un pH de 3.14, aplicar un voltaje de 25 kV, usar como estándar interno al clorhidrato de bromhexina. Este método desarrollado fue aplicado a la determinación de los productos de degradación de 16 productos comerciales sometidos a estabilidad acelerada, siendo estos: 7 AlkaSeltzer Plus (de exportación), 3 Tabcin efervescentes, Contact Ultra, Desenfriol D, Tylexflu, Vick pyrena, LM6 y XL3. Los resultados del análisis de cada producto se discuten y se observa como tienen una gran influencia: a) la forma farmacéutica de la formulación, b) los excipientes que contiene y c) el empaque que se usa para su comercialización en la estabilidad de los productos.

Se puede concluir que es de suma importancia contar con métodos analíticos capaces de lograr una separación simultánea tanto de los principios activos como de sus productos de degradación dentro de las diferentes matrices de las formas farmacéuticas más comunes, con la finalidad de contar con metodologías confiables y avaladas con evidencia documental para que el productor pueda justificar los periodos de validez (fecha de caducidad) de sus productos.

3. INTRODUCCIÓN

Los antigripales son medicamentos de venta libre (OTC) que combinan varias sustancias para aliviar los síntomas del resfriado, catarro o gripe común, entre ellos: estornudos, congestión y/o flujo nasal, cuerpo cortado, lagrimeo, tos y fiebre leves, molestias musculares moderadas, dolor de cabeza e irritación de garganta. Cabe hacer mención que los medicamentos para el resfriado pueden tratar los síntomas para quitar dichos malestares, pero no acortan la duración del resfriado.

Los estornudos, la garganta irritada, la mucosa nasal son las primeras señales de un resfriado que probablemente es la enfermedad más comúnmente conocida en el mundo. Aunque el resfriado común es generalmente leve, con síntomas que duran de una a dos semanas, es la causa principal de visitas al médico. El Centro Nacional para las Estadísticas de la Salud (NCHS, por sus siglas en inglés) calcula que en los Estados Unidos hubo 62 millones de casos del resfriado común que necesitaron atención médica, causando 45 millones de días de actividades limitadas y 22 millones de días escolares perdidos (Texas, 2009).

Más de 200 virus distintos pueden causar un cuadro de resfriado (catarro o rinofaringitis aguda). Los más frecuentes son las variedades rinovirus y coronavirus. Existen muchos subtipos de cada variedad, las recaídas en la infección pueden ser frecuentes ya que puede afectar un virus distinto ante el cual el sistema inmune no haya elaborado aún defensas específicas. Como el microorganismo que causa el resfriado es un virus que puede pertenecer a cepas muy diferentes, esto hace que no sea posible contar con un tratamiento para combatir la causa del resfriado, sino sólo para sus síntomas.

Por otro lado, en todo el mundo se realizan estudios científicos para establecer fechas confiables de vencimiento de productos farmacéuticos. Antes de 1950 sólo se utilizaban métodos y procedimientos cualitativos o semicuantitativos en dichos estudios, estos fueron reemplazados por métodos rigurosos diseñados científicamente que utilizan ensayos indicadores de estabilidad confiables, significativos y específicos. Muchos factores que afectan la estabilidad de los productos farmacéuticos son: la estabilidad de los principios activos, la interacción entre excipientes y principios activos, el proceso de fabricación, factores físicos como el calor, luz y humedad (Remington, 2003).

La electroforesis capilar es una técnica idónea para determinar la estabilidad de los medicamentos antigripales, ya que la técnica es barata, rápida y automatizada. La electroforesis se define como el movimiento de partículas o moléculas cargadas en un medio líquido, generalmente acuoso, cuando están bajo la influencia de un campo eléctrico. El fenómeno de electroforesis se lleva a cabo al aplicar una diferencia de potencial entre 2 electrodos separados por un tubo capilar lleno de una disolución buffer, con la consecuente generación de un campo eléctrico en el electrolito de separación. Si tomamos en cuenta que los compuestos que se tienen como principios activos en los antigripales están cargados a condiciones acidas, es posible poder seleccionar un pH adecuado para tener una buena separación.

Para llevar a cabo la determinación de la estabilidad de los antigripales se deben analizar muestras de los productos comerciales sometidos a las cámaras de estabilidad acelerada con variaciones en la temperatura, tiempo y humedad (proceso físico), además de que también es posible (si es que los productos comerciales son muy estables) someter una muestra a varios tipos de degradación química forzada (adición de ácidos, bases u oxidantes fuertes), una de las formas más efectivas es utilizando peróxido de hidrogeno al 30% dejando la reacción durante aproximadamente 24 horas para posteriormente ser medida (Marín, 2004).

Es importante determinar la estabilidad de un medicamento ya que mediante estos estudios se pueden establecer las fechas de caducidad (periodo de validez) de los productos, pudiendo afirmar que al ser almacenado a ciertos rangos de temperatura, humedad y tiempo el medicamento es seguro para el consumidor y alcanza los niveles terapéuticos adecuados para lograr su efecto (NOM-073-SSA1, 2005).

Por todo lo anterior, es de suma importancia contar con métodos analíticos capaces de lograr una separación simultánea tanto de los principios activos como sus productos de degradación dentro de la matriz compleja de las varias formas farmacéuticas de los antigripales, con la finalidad de contar con metodologías confiables y avaladas con evidencia documental para que el productor pueda justificar los periodos de validez de sus productos.

La oficina de administración de medicamentos y alimentos de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en Inglés) expreso en un documento enviado en 2010 a la Farmacopea de los Estados Unidos (USP por sus siglas en Inglés) (FDA D. o., 2010) la importancia de la actualización y modernización de las monografías de los principios activos contenidos en los medicamentos antigripales, ya que estas nunca fueron sujetas al proceso de pre-aprobación por lo que están deficientes en su calidad sobre todo porque carecen de metodologías para la determinación de impurezas y productos de degradación. Por lo anterior, es de suma importancia la actualización de estas monografías sobre todo si se conoce que el 4-Aminofenol es un producto de degradación neurotóxico, la FDA dio un periodo de 5 años para cumplir con esta modernización, por lo que este trabajo de tesis involucra el desarrollo de la metodología analítica para el monitoreo de los productos de degradación de este tipo de medicamentos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Desarrollar un método analítico indicativo de estabilidad para un grupo de 16 medicamentos antigripales, utilizando la técnica de electroforesis capilar. Todo esto con el fin de proporcionar evidencia documentada de cómo la calidad de estos productos varía con el tiempo, bajo la influencia de varios factores ambientales.

4.2 Objetivos Específicos

- Realizar un estudio de la influencia de las variables experimentales tales como pH, concentración de trietanolamina, tipo y concentración del buffer, durante el desarrollo del método por electroforesis capilar utilizando una mezcla modelo (mezcla de estándares de los principios activos y los productos de degradación).
- Establecer las condiciones óptimas del método analítico para que sea capaz de distinguir cada ingrediente activo de otras sustancias y de sus productos de degradación (separación simultánea) en la mezcla modelo.
- Aplicar el método desarrollado como un indicativo de la estabilidad de muestras de: 1) producto terminado, 2) productos terminados sometidos a estabilidad acelerada y 3) productos terminados con diferentes tipos de degradación forzada. Los dos primeros, proporcionados por el productor y el último rubro realizado en el laboratorio.
- Discutir sobre la influencia de la forma farmacéutica en los productos de degradación encontrados en muestras sometidas a estabilidad por electroforesis capilar.

5. HIPÓTESIS

Si mediante la técnica de electroforesis capilar es posible desarrollar un método para la separación y cuantificación de una mezcla de principios activos y productos de degradación contenidos en la mayoría de los medicamentos antigripales, entonces es posible usarlo como método indicativo de estabilidad para el análisis rutinario de diversas formas farmacéuticas en sus estudios de estabilidad correspondientes.

6. MARCO TEÓRICO

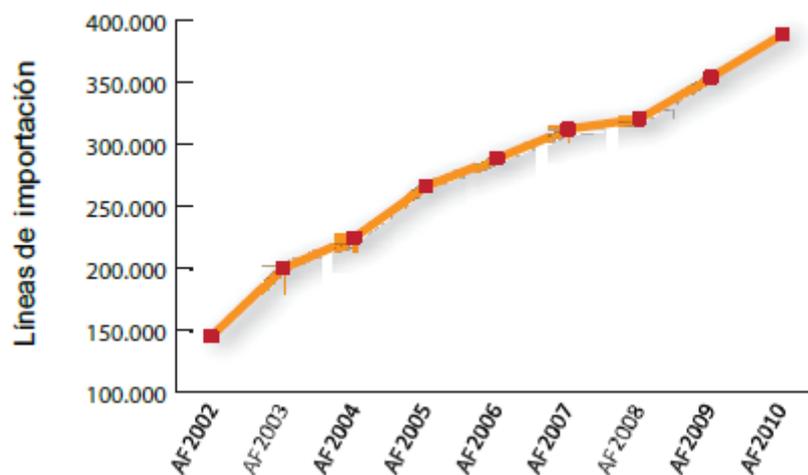
6.1 Mercado nacional y mundial de los fármacos antigripales

Debido a que muchos de los antigripales (Alka seltzer plus) analizados en el presente trabajo de tesis son fabricados en México y de exportación a Estados Unidos, se hace referencia al organismo regulador de ese país, que es la FDA ya que estos productos deben cumplir su normatividad.

La FDA tiene la responsabilidad de garantizar que los alimentos, los productos médicos y otros bienes importados (en este caso fabricados en México), cumplan rigurosamente las normas de inocuidad y calidad de forma idéntica a las que cumplen los productos fabricados en Estados Unidos (E.U.A.). La FDA regula una amplia gama de productos médicos:

- Productos y componentes farmacéuticos, como medicamentos recetados y remedios de venta libre de marcas registradas y genéricas para uso humano o veterinario.
- Sustancias biológicas
- Dispositivos médicos

La demanda de productos médicos en los Estados Unidos creció sustancialmente entre finales de la década de los años noventa y 2010, estimulada en gran parte por el surgimiento de la tecnología y servicios médicos nuevos que fueron incorporados de manera generalizada por el sistema sanitario estadounidense. En los últimos años, esta gran demanda en el país ha sido satisfecha cada vez más por productos importados. Por ejemplo, a partir de 2002, las importaciones de productos farmacéuticos y sustancias biológicas han crecido más del doble y las importaciones de dispositivos médicos (se consideran desde abatelenguas hasta complejos equipos médicos) se cuadruplicaron. Los productos farmacéuticos de origen extranjero representan ahora un 40 por ciento de los medicamentos consumidos en E.U.A. y un sorprendente 80 por ciento de los principios activos de los medicamentos consumidos en el mercado proveniente del exterior.

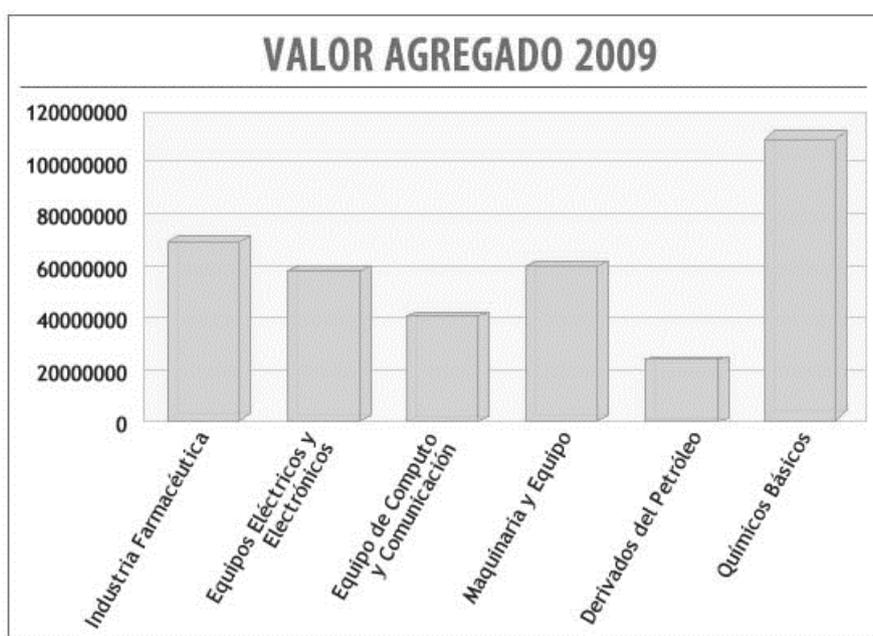


Las importaciones de productos farmacéuticos en E.U.A. han crecido más del doble desde 2002 (FDA, Food Administration Drug, 2015).

En un estudio realizado en 52 países, incluido México, se encontró que la introducción de nuevos medicamentos puede explicar hasta el 40% del aumento promedio en la esperanza de vida de la población en el mundo. Además, dado que el crecimiento y competitividad de la industria farmacéutica se basa en la innovación y generación constante de nuevos productos, es una industria clave para el desarrollo económico.

Según los datos oficiales (Censos Económicos 2009, INEGI), la producción de la industria farmacéutica en México alcanzó el 3% del total del ramo de manufacturas y generó en 2009 más de 80,000 empleos directos.

La fabricación de preparaciones farmacéuticas es la novena industria más importante de la economía mexicana, y la segunda en valor agregado, sólo después de los productos químicos básicos y arriba de otras industrias consideradas como estratégicas para el crecimiento (ver Figura 1.0).



Fuente: Censo Económico 2009. INEGI

Figura 1.0 Producción del 2009 de las diferentes industrias en México

En México, al 2011 tomando en cuenta laboratorios con ventas superiores a 5,000 unidades mensuales, se contabilizan 208 laboratorios, de los cuales 73% son empresas nacionales (CFM, 2012).

En nuestro país cuatro son las marcas de antigripales con mayores ventas, se trata de Antiflu Des del laboratorio Chinoin; Desenfriol-D, de Schering Plough; Sedalmerck, de Merck y Next de Genomma Lab. La marca Antiflu-Des vendió 386 millones 664 mil pesos; Desenfriol-D 228 millones 483 mil pesos; Sedalmerck 211 millones 710 mil pesos y Next 205 millones 966 mil pesos.

De acuerdo con Diego Ayala, director de mercadotecnia de IMS Health, el negocio se ha transformado desde que se prohibió la venta de antibióticos, la cual ha disminuido, pero ha aumentado la de antigripales OTC. Indica que “hubo una legislación en la cual se señala que para obtener antibióticos se requiere receta médica, uno de los objetivos

del gobierno fue evitar la resistencia a los antibióticos, por lo que se empezaron a sustituir esos antibióticos que muchas veces eran automedicados por antigripales de venta libre, por eso es que aunque ha disminuido el número de pacientes que acuden al médico por un resfriado común y creció la demanda de antigripales” (DIGITAL, 2012).

Las ventas de productos farmacéuticos para afecciones respiratorias normalmente se duplican de septiembre a marzo, comparado con abril a agosto. En la temporada de 2014 se observó una caída del 8% en unidades, pasando de 31 millones de unidades del 2013 a 28 millones en 2014”, explicó la firma de análisis del sector farmacéutico (ECONOMISTA, 2014).

6.2 Medicamentos de libre venta (OTC)

Los medicamentos pueden ser clasificados según el tipo de venta en dos grandes categorías: los de venta libre y los medicamentos éticos o de venta bajo receta. Los primeros, también conocidos como OTC (siglas en inglés por: “over the counter”) se diferencian de los últimos en que pueden ser adquiridos sin prescripción médica, es decir sin receta. El hecho de eliminar el requisito de la receta genera un mayor acceso por parte de la población pero también una gran responsabilidad por parte del usuario ya que en base a su propio diagnóstico usa el medicamento (González, 2005).

Los medicamentos de venta libre tienen una etiqueta con la información del contenido. Dicha etiqueta proporciona la información que ayuda a seleccionar el producto adecuado para los problemas de salud, así como las indicaciones para su uso apropiado. La etiqueta de información en los medicamentos contiene los siguientes datos:

- ✓ El nombre del principio activo
- ✓ Para qué y cómo se usa el medicamento
- ✓ Si se debe consultar con el proveedor de servicios de salud antes de usarla

Algunos de los problemas como dolores y fiebre son las razones más comunes por las cuales las personas usan medicamentos sin receta o de venta libre. Los siguientes son cinco ingredientes activos que se usan para bajar la fiebre y tratar dolores de cabeza, dolores en los músculos, en la espalda, en los dientes, dolores asociados con la menstruación y resfriados:

- | | |
|-----------------|---------------|
| ✓ Acetaminofeno | ✓ Naproxeno |
| ✓ Aspirina | ✓ Ketoprofeno |
| ✓ Ibuprofeno | |

Los medicamentos sin receta médica pueden ayudar a tratar o prevenir algunos problemas de salud (FDA, 2016) como son:

- ✓ Congestión nasal (descongestionantes).
- ✓ Alergias (antihistamínicos).
- ✓ Tos (calmante y expectorante).
- ✓ Indigestión (antiácidos y medicamentos para reducir la acidez estomacal).
- ✓ Adicción al cigarrillo (chicles, parches, y pastillas de nicotina).

- ✓ Daños en la piel producidos por el sol (productos para protección solar).

Aunque este tipo de medicamentos no causan hábito o dependencia y no llegan a provocar efectos secundarios graves, no están exentos de causar alguna molestia. De acuerdo con Antonio Caso, especialista en farmacoeconomía de la UNAM, en nuestro país la automedicación está asociada a las enfermedades respiratorias e infecciones gastrointestinales (PROFECO, 2010) lo cual en muchas ocasiones retrasa un diagnóstico certero de la enfermedad al no acudir con el médico especialista.

6.3 Principios activos utilizados en los antigripales

Los antigripales son medicamentos de libre venta que combinan varias sustancias para aliviar síntomas de resfriado, catarro o gripe común como estornudos, congestión nasal, cuerpo cortado y dolor de garganta, entre otros (Comscore, 2000). Estos medicamentos incluyen componentes que pertenecen a distintas familias:

- Analgésicos y antipiréticos: los más utilizados son ácido acetilsalicílico, acetaminofén (paracetamol), ibuprofeno o diclofenaco, y sirven para eliminar dolor muscular y de cabeza, malestar general, temperatura elevada e inflamación de garganta.
- Descongestionantes: las más empleadas son imidazolina, xilometazolina, oximetazolina, nafazolina y antazolina.
- Antihistamínicos: loratadina, pseudoefedrina, fenilefrina, clorfenamina y bromfeniramina, todos ellos útiles para reducir problemas como generación excesiva de moco, ojos llorosos y cosquilleo en la nariz, pero también en inflamación, congestión y dolor en los senos paranasales.

La composición general de una forma de presentación farmacéutica (Fonseca, 2004) incluye:

- ✓ El o los fármacos o principios activos (responsables de la respuesta terapéutica).
- ✓ Sistema de adecuación fármaco/sistema de entrega del fármaco al organismo.
- ✓ Agua, cosolventes o ambos
- ✓ Mejora en la aceptación del sabor, color, olor, etc.
- ✓ Auxiliares de adecuación tecnológica (desintegrantes, diluyentes, flocculantes, etc.).

Los fármacos que se presentan en formas orales sólidas no utilizan vehículos. Existen muchos tipos aunque los más habituales son: los comprimidos y las cápsulas.

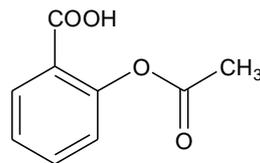
Los comprimidos son medicamentos sólidos formados por compresión de sus constituyentes; existen varios tipos según su composición:

- Sencillos: están formados por un principio activo y los excipientes. Normalmente son los que se absorben de forma más rápida pero también aquellos que se degradan fácilmente.
- Complejos: cuentan con varias capas. En ellas se incluyen distintos principios activos o la misma sustancia para que su duración en el organismo sea mayor.

También se pueden clasificar por su presentación:

- Tabletas: están formadas por la compresión directa de sus constituyentes (principios activos y excipientes).
- Grageas: productos recubiertos de azúcares, sustancia protectoras.
- Efervescentes: son aquellos que al colocarse en agua (previo a su administración) se disuelven liberando el principio activo a la solución. Algunos ejemplos son los antigripales, algunas vitaminas, calcio y analgésicos (García, 2013).

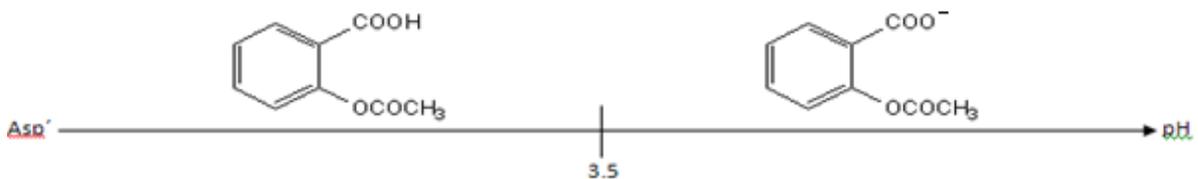
6.3.1 Aspirina: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.



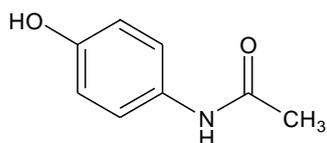
El ácido acetilsalicílico o como comúnmente se le conoce aspirina, es un analgésico (sustancia que alivia el dolor) y antipirético (sustancia que reduce la fiebre). Este fármaco es el más usado a nivel mundial. Alivia dolores leves aunque no cura la causa del dolor y es un anti-inflamatorio (Hill, 1999).

Es un polvo blanco cristalino, con peso molecular de 180.16 g/mol y pKa 3.5 al hidrolizarse (rápidamente en presencia de agua) la aspirina se obtiene como producto ácido salicílico (CPFEUM, 2014).

Escala de zona de predominio de aspirina:

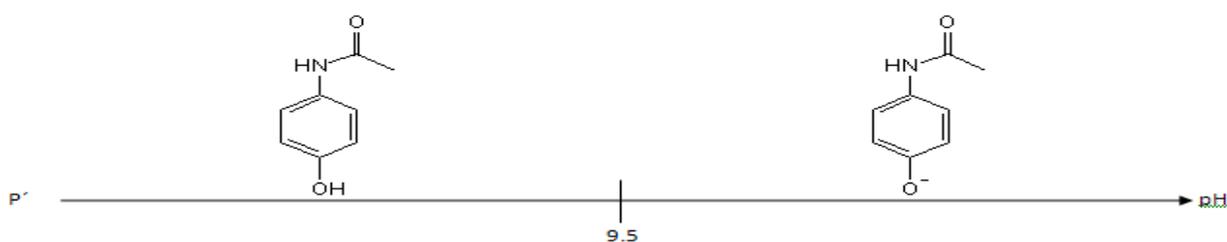


6.3.2 Acetaminofén (Paracetamol): Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.

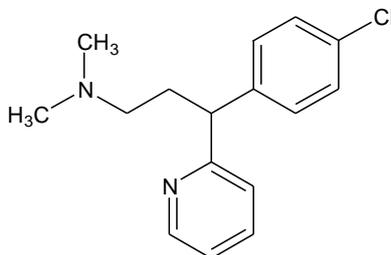


Es un polvo blanco cristalino con un pKa de 9.5, ligeramente soluble en agua fría, soluble en agua caliente. También es soluble en metanol, etanol, dimetilformamida, dicloruro de etileno, acetona, acetato de etilo. Ligeramente soluble en éter, insoluble en éter de petróleo, pentano, benceno. Se usa para aliviar el dolor de cabeza, dolores musculares, períodos menstruales, resfriados, dolores de garganta, dolor de muelas, dolores de espalda, reacciones a las vacunas y para reducir fiebre (Merck, 2001).

Escala de zona de predominio de acetaminofén:

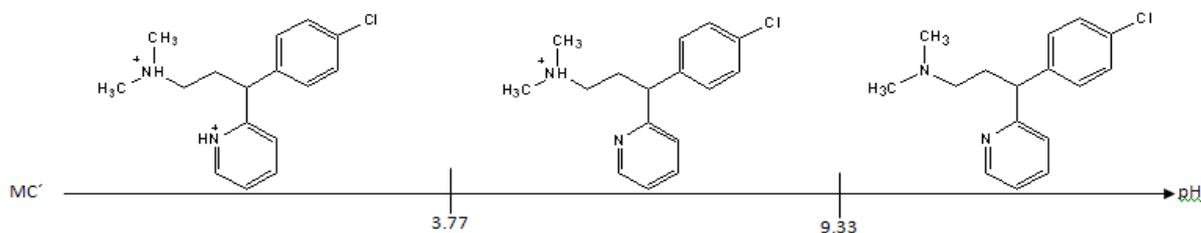


6.3.3 Clorfeniramina (Clorfenamina): Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.

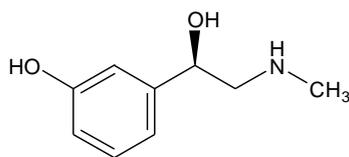


Es un polvo cristalino blanco con pKa de 3.77 y 9.33 la cual pertenece a una clase de medicamentos llamados antihistamínicos, es ligeramente soluble en benceno y éter, es soluble en agua, metanol, etanol y cloroformo. Se usa para aliviar el enrojecimiento, la picazón y el lagrimeo de ojos; los estornudos; la irritación de nariz o garganta; y la secreción nasal ocasionados por las alergias, la fiebre del heno y el resfriado común (Pharmacists, 2016).

Escala de zona de predominio de clorfeniramina:

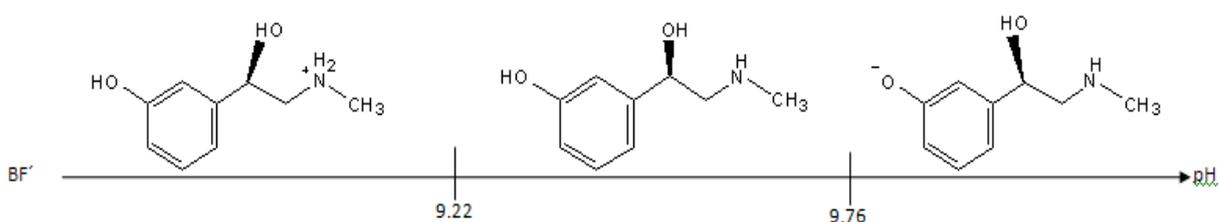


6.3.4 Fenilefrina: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.

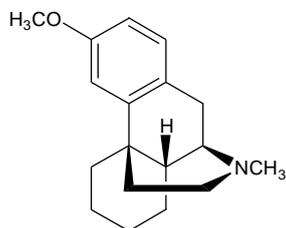


Cristales blancos con pKa de 9.22 y 9.76, es soluble en agua y alcohol, pertenece a una clase de medicamentos llamados descongestionantes nasales. Se usa para aliviar las molestias nasales ocasionadas por los resfriados, las alergias y la fiebre del heno. También se usa para aliviar la congestión y la presión de los senos paranasales (Merck, 2001).

Escala de zona de predominio de fenilefrina:

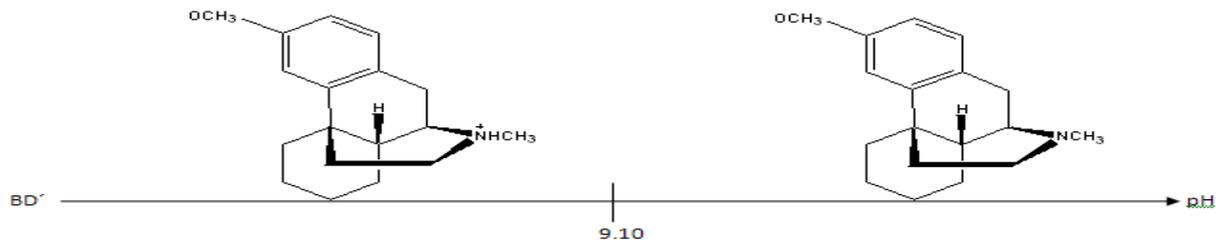


6.3.5 Dextrometorfano: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.

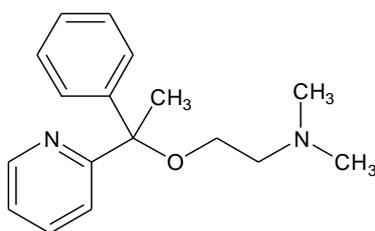


Tiene un peso molecular de 370.33 g/mol, es un polvo cristalino, prácticamente insoluble en éter, soluble en agua con un pka de 9.10. Se usa para aliviar temporalmente la tos causada por el resfriado común, la gripe y otras afecciones. Pertenece a una clase de medicamentos llamados antitusivos (Pharmacists, 2016).

Escala de zonas de predominio de dextrometorfano:

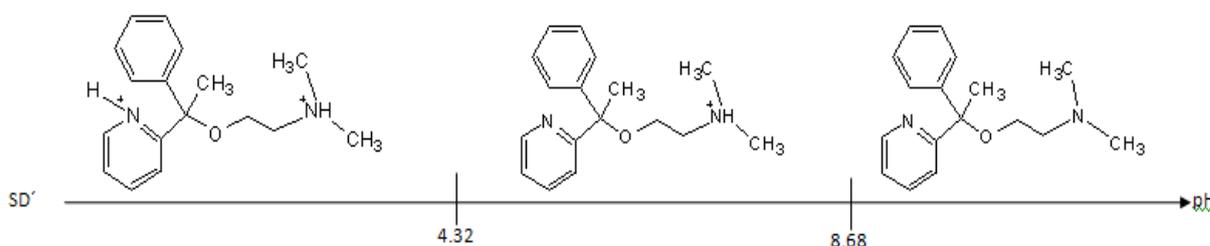


6.3.6 Doxilamina: Estructura, propiedades fisicoquímicas, usos.



Polvo blanco con valor de pKa = 4.32 y 8.68, soluble en agua, se usa para el tratamiento de corto plazo del insomnio (dificultad para dormir o permanecer dormido). La doxilamina también se usa en combinación con descongestivos y otros medicamentos para aliviar los estornudos, la secreción nasal y la congestión nasal ocasionados por el resfriado común. Pertenecce a una clase de medicamentos llamados antihistamínicos (Pharmacists, 2016).

Escala de zonas de predominio de doxilamina:



6.3.7 Productos de degradación conocidos de los principios activos en estudio

Los productos de degradación se consideran impurezas, estas son sustancias que pueden generarse durante el proceso de manufactura o almacenamiento del fármaco y que si se exceden de cierto porcentaje pueden ser dañinas para el consumidor (CPFEUM, 2014).

El acetaminofén (paracetamol) presenta impurezas comerciales conocidas como: 4-Aminofenol, 4-Cloroacetanilida, 4-Nitrofenol y productos de degradación como: benzoquinona e hidroquinona, estos se han estudiado en técnicas como cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) (Calinescu, 2012).

Para el caso de la fenilefrina se identificaron también por HPLC los siguientes productos de degradación:

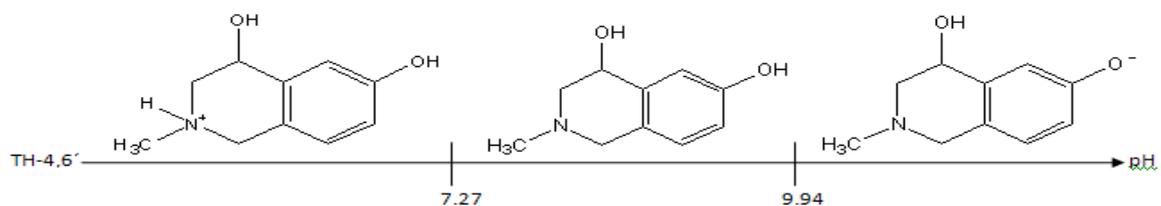
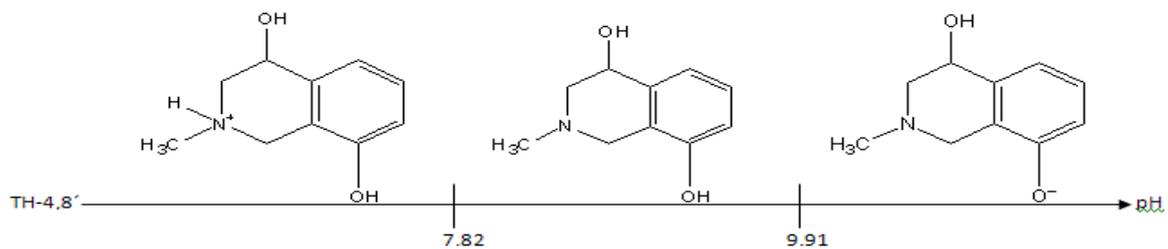
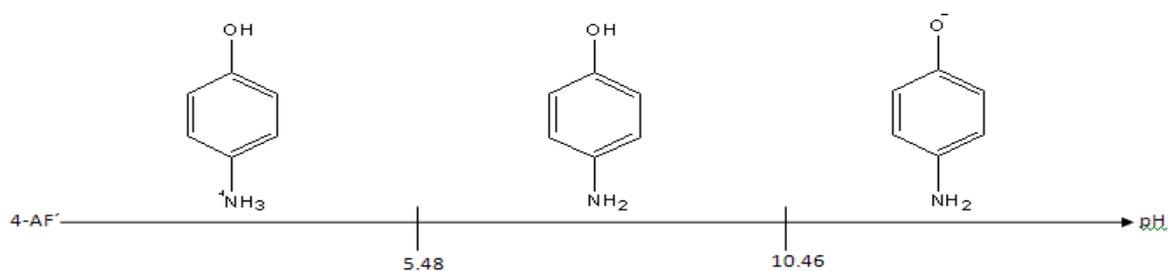
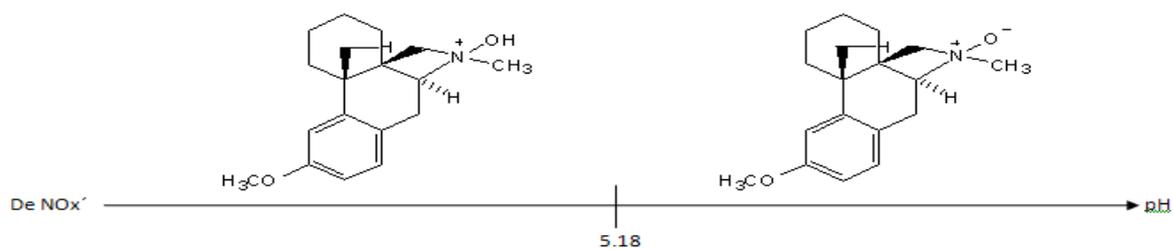
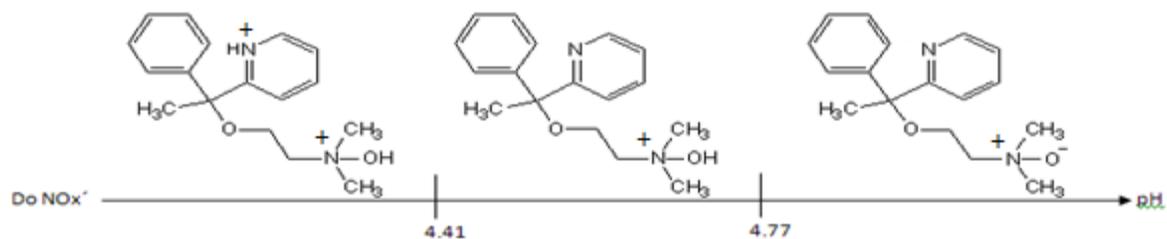
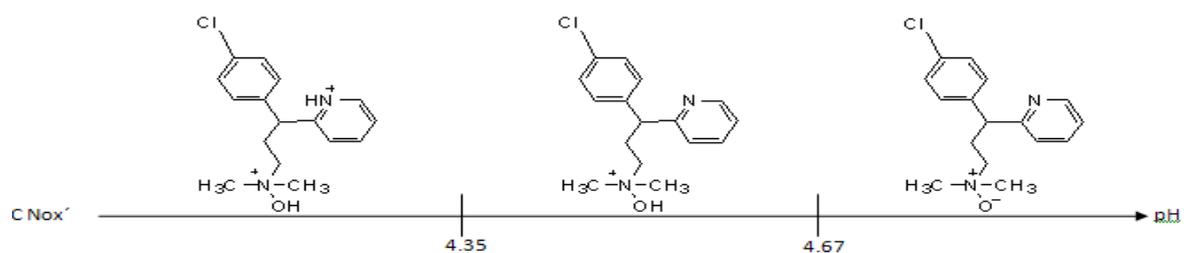
1-[5-(hidroximetil)-2-furil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-4,8-diol

1-[5-(hidroximetil)-2-furil]-2-metil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-4,6-diol

Estos productos de degradación son isómeros (Dousa, 2011).

Otros productos de degradación conocidos son doxilamina N-oxidada, clorfeniramina N-oxidada, dextrometorfano N-oxidado.

Se muestran a continuación las escalas de zonas de predominio de cada uno de los productos de degradación analizados con sus respectivos pka's:



Estas escalas servirán de apoyo para el posterior análisis de resultados.

Los productos de degradación analizados son solubles en agua, para el caso del 4-aminofenol aunque es soluble en agua, es sensible a la luz.

6.4 Estabilidad de Medicamentos

El problema de estabilidad de los medicamentos existe desde el comienzo mismo de su tecnología. Anteriormente el farmacéutico enfrentaba la elaboración de dos tipos de medicamentos, el magistral, preparado en el momento para un enfermo respondiendo a una receta médica y el ofical, conservado en la farmacia después de haber sido preparado igualmente por el farmacéutico pero respondiendo a fórmulas codificadas en las farmacopeas.

Posteriormente el farmacéutico deja la farmacia para establecer una fábrica de preparados oficinales estandarizados o algunas fórmulas de su propiedad, que envasados convenientemente son distribuidos en las farmacias. Es en este momento cuando empieza a preocupar el problema de la estabilidad del medicamento, ya que no pasan escasos días entre la preparación del medicamento y su administración al enfermo, sino tiempos más prolongados (Fonseca, 2004).

6.4.1 Definición de Estabilidad y sus tipos

La estabilidad es la capacidad de un fármaco o medicamento de permanecer dentro de las especificaciones de calidad establecidas en el envase que lo contenga durante su periodo de vida útil (fecha de caducidad) (NOM-073-SSA1, 2005).

En la alteración de un medicamento se pueden distinguir tres tipos de inestabilidad (Fonseca, 2004):

- Inestabilidad física: sucede cuando se alteran las características galénicas de las formas farmacéuticas (pérdida en efervescencia de comprimidos efervescentes, separación de dos fases en una emulsión, etc).
- Inestabilidad química: sucede cuando se produce la degradación de un principio activo a través de una reacción química, con la consiguiente disminución de éste por descomposición.
- Inestabilidad biológica: se presenta cuando se desarrollan gérmenes microbianos (bacterias, hongos, levaduras) en el seno de un medicamento.

6.4.2 Importancia de las pruebas de estabilidad de los productos terminados

El objetivo fundamental de los estudios de estabilidad es conseguir, por un lado, un tiempo de vida útil grande para una nueva formulación farmacéutica y, por otro, poseer un conocimiento estadísticamente válido de la fecha de vencimiento del medicamento antes de su lanzamiento al mercado (Fonseca, 2004).

En un estudio de estabilidad, se efectúan pruebas a un fármaco o un medicamento por un tiempo determinado, bajo la influencia de temperatura, humedad o luz en el envase que lo contiene (NOM-073-SSA1, 2005).

6.4.3 Finalidad de las pruebas de estabilidad

La finalidad de los estudios de estabilidad, es proporcionar evidencia documentada de cómo la calidad de un fármaco o un medicamento varía con el tiempo, bajo la influencia de factores ambientales como: temperatura, humedad o luz. Los estudios permiten establecer las condiciones de almacenamiento, periodos de reanálisis y vida útil.

Estas pruebas se efectúan a un fármaco o a un medicamento por un tiempo determinado, bajo la influencia de temperatura, humedad o luz en el envase que lo contiene (NOM-073-SSA1, 2005).

Otra de las finalidades de las pruebas de estabilidad, es generar información para establecer la fecha de caducidad y las condiciones de almacenamiento de los medicamentos. Estos estudios son llevados a cabo para asegurar que los medicamentos mantengan completamente su eficacia hasta el final de su fecha de caducidad (Benitez, 2004).

6.4.4 Panorama general de cómo se realiza una prueba de estabilidad.

Para realizar una prueba de estabilidad se deben tener en cuenta los tipos de diseño, el tipo de muestra a analizar ya sea un fármaco nuevo o un fármaco conocido y las condiciones de estudio.

Los diseños de un análisis de estabilidad son:

- Diseño de análisis completo: Contempla el análisis de todos los parámetros indicativos de estabilidad a todas las condiciones establecidas en el protocolo.
- Diseños de análisis reducidos: estos pueden ser aplicados a la mayoría de los productos farmacéuticos, sin embargo para ciertos fármacos complejos, en distintos sistemas de liberación, estos estudios deben ser justificados. Existen dos tipos:
 - ✓ Diseño por categoría: en este estudio solo las muestras de los extremos de ciertos factores del diseño se analizan en todos los tiempos establecidos en un diseño completo.

- ✓ Diseño factorial fraccionario: es un estudio en el cual sólo un grupo de muestras seleccionadas del total del número de muestras, se analizan a un punto de muestreo especificado. Se asume que la estabilidad de las muestras analizadas representa la estabilidad de todas las muestras a un punto de muestreo dado (Benitez, 2004).

Las condiciones de estudio y su duración deben ser suficientes para cubrir el almacenamiento, distribución y uso del fármaco. Para ello se toma en cuenta de manera general la tabla 1:

Tabla 1. Condiciones de estudio de medicamentos conocidos o genéricos.

Tipo de estudio	Condiciones de almacenamiento	Periodo mínimo	Frecuencia de análisis
Estabilidad acelerada	40° C ± 2° C/ 75% ±5 % HR	6 Meses	0,3 y 6 Meses
Estabilidad a condición intermedia	30° C ± 2° C/ 65% ±5 % HR	6 Meses	0,3 y 6 Meses
Estabilidad a largo plazo	25° C ± 2° C/ 60% ±5 % HR o 30° C ± 2° C/ 65% ±5 % HR	12 Meses	0,3, 6, 9 y 12 Meses

Tabla extraída de (NOM-073-SSA1, 2005)

6.5 Métodos Analíticos Indicativos de Estabilidad

Es un método analítico cuantitativo para un fármaco o medicamento, capaz de distinguir cada ingrediente activo de otras sustancias y de sus productos de degradación (NOM-073-SSA1, 2005).

6.5.1 Requerimientos a cumplir en la validación.

La validación de un método analítico es un proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

Los métodos se clasifican bajo los siguientes criterios:

- En función de su aplicación (NOM-059-SSA1 y NOM-073-SSA1):
 - a) Métodos para producto a granel,
 - b) Métodos para producto terminado,
 - c) Métodos para muestra primaria (muestra que se toma de un lote), y
 - d) Métodos indicadores de estabilidad.
- En función de su propósito analítico:
 - a) Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia).
 - b) Métodos para establecer la presencia del analito a un límite.
 - c) Métodos para identificar el analito.

Esta clasificación se utiliza para establecer los parámetros de desempeño a estudiar en la validación del método analítico.

En función de la aplicación analítica de un método, en la tabla 2 (Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos, 2002) se indican los parámetros de desempeño a estudiar.

Tabla 2. Parámetros de desempeño a estudiar en la validación de un método analítico.

PRUEBAS DE IMPUREZAS

PARÁMETRO DE DESEMPEÑO	CONTENIDO/ POTENCIA / VALORACIÓN	CONTENIDO/ VALORACIÓN	LÍMITE	IDENTIFICACIÓN
PRECISIÓN/ ADECUABILIDAD DEL SISTEMA	SÍ	SÍ	SÍ	*
LINEALIDAD DEL SISTEMA	SÍ	SÍ	NO	NO
ESPECIFICIDAD ²	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
EXACTITUD Y REPETIBILIDAD	SÍ	SÍ	NO	NO
LINEALIDAD DEL MÉTODO	SÍ	SÍ	NO	NO
PRECISIÓN DEL MÉTODO O PRECISIÓN INTERMEDIA ²	SÍ	SÍ	NO	NO
ESTABILIDAD ANALÍTICA ² DE LA MUESTRA	*	*	NO	NO
LÍMITE DE DETECCIÓN	NO	NO	SÍ	NO
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	NO	SÍ	NO	NO
ROBUSTEZ	*	*	*	NO
TOLERANCIA	*	*	*	NO

*Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método.

² También es definido como un estudio de tolerancia.

6.5.2 Métodos analíticos reportados para la determinación de los productos de estabilidad de antigripales.

Las técnicas empleadas para el análisis de muestras de estabilidad pueden ser de diversos tipos como son la titulación, espectrofotometría, así como métodos cromatográficos. Dentro de los métodos cromatográficos, la cromatografía de líquidos (HPLC) es la más empleada debido a su capacidad de alta resolución, sensibilidad y especificidad. La técnica de electroforesis capilar ha probado ser efectiva para ser usada como método indicativo de estabilidad de fármacos en diversas aplicaciones, lo anterior es debido a que las separaciones se realizan empleando mecanismos distintos a los cromatográficos (tabla 3), utilizando capilares de pequeñas dimensiones, con bajo gasto de disolventes y reactivos, además de ofrecer tiempos de análisis comparables a los de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como se ve en la tabla 4 por lo que es una excelente alternativa a los métodos de separación cromatográficos, se comparan los métodos HPLC y EC (Paez, 2007).

Tabla 3. Comparación de fundamentos de los métodos analíticos HPLC Vs EC

	HPLC	EC
Separacion	Partición de un compuesto entre dos fases separadas	Diferencia de movilidad de los compuestos bajo un campo eléctrico
Diametro del tubo	Opcional	< 100 micras
Perfil de flujo	Laminar	Plano
Movimiento del liquido	Balance entre la presión y la resistencia por viscosidad	Balance entre la fuerza eléctrica y el arrastre por viscosidad
Caracterizacion de los solutos	Tiempo de retención relativo (K')	Movilidad efectiva (μ_{eff})
Volumen de la muestra	μ L	nL
Gráfico	Cromatograma	Electroferograma

Tabla 4. Comparación de costos entre HPLC y EC.

Costo y tiempo de análisis	Metodología	HPLC	EC
Costo por análisis (USD)	Columna	150 – 450	10 – 100
	Numero de usos	100 – 500	40 – 200
	Disolventes (y reactivos)	40 – 200 ^a	4 – 50
	Manejo de residuos	30 – 400	0.5 – 10
	Costo total por muestra	2 – 5	0.5 – 1
Tiempo por análisis (minutos)	Preparación del equipo	30 – 60	15 – 45
	Preparación de la muestra	10 – 30	10 – 30
	Tiempo de corrida	15 – 30	10 – 60
	Tiempo total	55 - 120	30 – 120

a) Algunos reactivos, incluyen aditivos de alto costo como las ciclodextrinas

Tabla extraída de Shaw C.J., Guzmán N.A., Capítulo 7. Applications of capillary electrophoresis technology in the pharmaceutical industry, en prensa.

De acuerdo a los estudios previos realizados en la tesis titulada “Desarrollo y validación de una técnica analítica por electroforesis capilar para tabletas efervescentes con multiactivos” se sabe que el método de EC es un método eficaz para determinar los principios activos de antigripales en efervescentes (Paez, 2007).

6.6 Electroforesis capilar (EC)

La electroforesis capilar requiere pequeños volúmenes de muestra por lo que ha despertado un gran interés en diferentes campos, tal como lo demuestra el incremento de publicaciones realizadas en el área de la bioquímica y biotecnología, industria farmacéutica, análisis clínicos y medio ambiente. Es una técnica de separación basada en la diferente velocidad de migración de las distintas especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico; estas partículas migran hacia el cátodo o ánodo, en dependencia de una combinación de su carga, peso molecular y estructura. La separación se lleva a cabo en un capilar de sílice fundida de diámetro muy pequeño (10-100 μm) (Osatinsky, 2007).

Existen varias modalidades de separación por esta técnica como por ejemplo:

- Electroforesis capilar de zona o en disolución libre (CZE por sus siglas en Ingles)
- Electroforesis capilar micelar electrocinética (MECC por sus siglas en Ingles)
- Electroforesis capilar en gel (CGE por sus siglas en Ingles)
- Isoelectroenfoque capilar (CIEF por sus siglas en Ingles)
- Isotacoforesis capilar (CITF por sus siglas en Ingles).

La electroforesis capilar de zona (CZE), es el tipo de electroforesis que se fundamenta en que los analitos cargados se separan por sus diferencias de movilidades cuando están bajo un campo eléctrico. Este campo eléctrico se genera cuando se aplica una diferencia de potencial entre 2 electrodos separados por un medio conductor llamado electrolito soporte que usualmente es un buffer. Los analitos bajo estas condiciones y al tener diferente movilidad, tendrán como resultado una diferente velocidad, llegando a diferentes tiempos al detector.

La movilidad electroforética de un analito depende en gran parte de las características propias de éste (relación carga/ tamaño), así como del medio (concentración, temperatura y viscosidad). En consecuencia, moléculas de gran carga, menor radio molecular y baja concentración, tendrán mayor movilidad, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\mu_i = \frac{Q}{6 \pi r_i \eta}$$

Donde:

μ_i = movilidad del ion

Q= carga

r_i = radio iónico

η = viscosidad

La separación de una mezcla de analitos por electroforesis se da por la diferencia de velocidad de migración bajo un campo eléctrico, la cual responde a la siguiente ecuación:

$$v = \mu E$$

Donde: v = Velocidad del analito

μ = Movilidad electroforética

E = Campo eléctrico

De modo que las velocidades a las que migren las especies dependerán de las relaciones carga/ tamaño, de forma que un ion pequeño migrará más rápido que otro más grande de la misma carga. De igual forma un ion con alta carga migrará más rápido que uno con carga más pequeña, siempre y cuando sean del mismo tamaño. Las moléculas neutras no se ven influenciadas por el campo eléctrico (Cruces, 1998).

6.6.1 Descripción general del equipo

En electroforesis capilar se requiere un equipo relativamente simple: una fuente de poder de alto voltaje, un capilar de sílice fundida cuyos extremos se encuentran sumergidos, junto con dos electrodos, en dos viales que contienen una disolución amortiguadora, un detector y un sistema de adquisición de datos (figura 2.0).

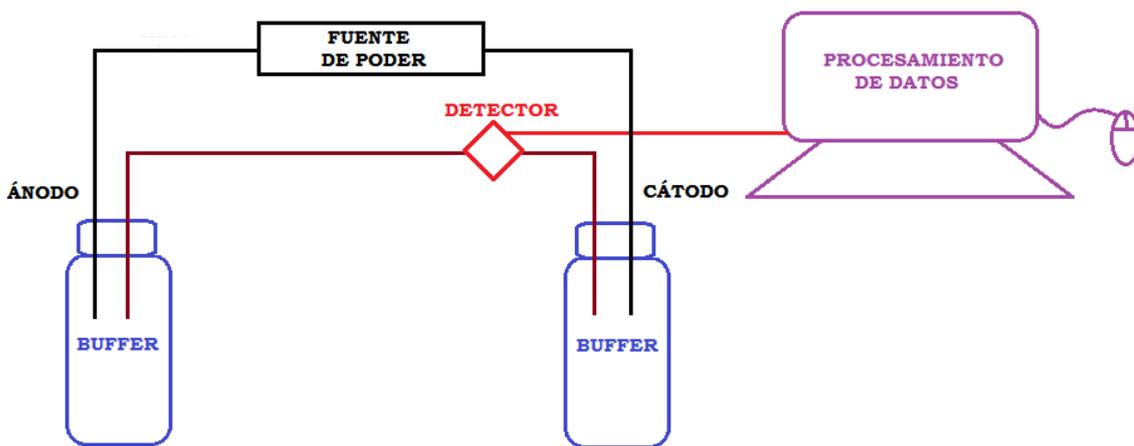


Figura 2.0 Esquema del equipo de electroforesis capilar.

La fuente de poder de alto voltaje es capaz de proporcionar entre 0 y 30 kV, además de ser autoreversible, es una fuente de corriente continua conectada a dos electrodos de platino inmersos en un electrolito donde se genera el campo eléctrico.

Los capilares son de sílice fundida de diámetros internos entre 10 y 100 μm (habitualmente de 50 μm) cubiertos con poliamida para darle flexibilidad y disminuir su fragilidad.

El uso de estos capilares tiene múltiples ventajas:

- los capilares son anticonvectivos en sí mismos, por lo tanto, no es necesaria la utilización de un gel soporte como medio.
- el calor generado al pasar la corriente eléctrica (efecto Joule), que daría lugar a problemas de gradientes de temperatura no uniformes (cambios locales de viscosidad), es fuertemente reducido, ya que la disipación de calor es muy efectiva por la gran área superficial de los capilares.

- c) por todo lo anterior, pueden aplicarse altos voltajes consiguiéndose una reducción del tiempo de análisis y altas eficiencias (Osatinsky, 2007).

La muestra se inyecta en un extremo del capilar y la aplicación del voltaje causa la migración de las moléculas, que al ir pasando por un detector envían una señal que se registra en un trazo luego de ser procesada obteniéndose así un electroferograma, es decir un gráfico con las señales (propiedad medida por el detector) de los analitos en función del tiempo de la medición de la muestra (Cruces, 1998).

6.6.2 Bases teóricas de la separación por electroforesis capilar de zona.

Las separaciones analíticas se llevan a cabo para obtener, en un tiempo razonablemente corto, información, tanto cualitativa como cuantitativa, acerca de la composición de una muestra. Los determinantes de la calidad de la separación son:

- ✓ Tiempo de análisis: se debe llevar a cabo en el menor tiempo posible.
- ✓ Eficacia
- ✓ Resolución: el grado de separación de los componentes de la muestra.
- ✓ Selectividad: que se logre la separación de la mayoría de los componentes con las mismas condiciones.

La electroforesis capilar de zona permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética, en un buffer a un pH determinado con la influencia de un flujo electrosmótico (EOF por sus siglas en inglés).

Cualquier factor que influya sobre la carga o el tamaño del soluto o sobre la viscosidad del buffer va a causar cambios en la movilidad electroforética. Para medir la velocidad y la movilidad electroforética es necesario conocer el tiempo que tarda un soluto en migrar desde el punto de inyección hasta el detector, este tiempo se denomina tiempo de migración (Cruces, 1998). Cuanto mayor sea el voltaje del campo eléctrico aplicado, menor será el tiempo de migración de los iones a través del capilar.

Cuando se coloca una disolución buffer dentro de un capilar, la superficie interior de éste adquiere una carga. Esto es debido a la ionización de la superficie o a la adsorción de iones del buffer en el capilar.

Los capilares de sílice fundida, que son los más utilizados en EC, tienen grupos silanoles en su superficie (Si-OH) que se ionizan dando grupos que pueden estar cargados positivamente (SiOH_2^+), negativamente (SiO^-) o pueden ser neutros (SiOH), dependiendo del pH de la disolución de electrolito que lo rodee.

Por lo que el flujo electrosmótico (EOF) se genera como consecuencia de la interacción entre el electrolito soporte con la superficie cargada del capilar al aplicar un campo eléctrico. A un pH mayor a 3, las paredes del capilar adquieren predominantemente carga negativa debido a la ionización de los grupos silanol

(SiOH/SiO⁻), lo cual genera una doble capa con las contracciones de carga positiva, ubicada entre la solución y la pared del capilar.

Cuando se aplica un campo eléctrico, la capa móvil de cationes se ve impulsada hacia el cátodo y como estos cationes están solvatados arrastran con ellos al conjunto de iones de la muestra, causando así, el flujo electroosmótico como se muestra en el esquema de la figura 3.0:

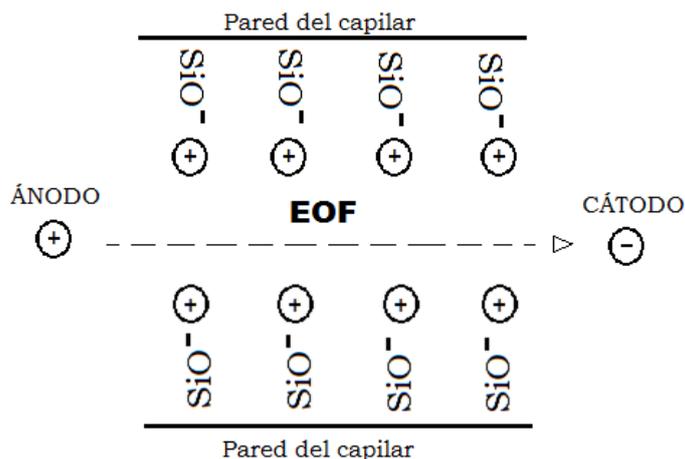


Figura 3.0 Esquema del EOF.

La existencia del flujo electroosmótico afecta el tiempo de migración de las especies a través del capilar y por lo tanto también afecta la resolución de la separación, por ello para disminuir el EOF se puede invertir el sentido de la separación ya que se sabe que el flujo electroosmótico migra hacia el cátodo, otra forma de disminuirlo es agregando aditivos a la solución buffer; estos aditivos deben tener la característica de ser adsorbidos reversiblemente en el capilar.

Durante las separaciones los viales y el capilar se llenan con una solución buffer; tanto los extremos del capilar como los electrodos se encuentren sumergidos en viales que contienen el electrolito. La muestra está formada por un conjunto de iones (aniones o cationes) que se introducen dentro del sistema y que al someterlos a la influencia de un campo eléctrico, ellos migran hacia el electrodo correspondiente (aniones migraran al ánodo y los cationes migraran al cátodo).

La detección se realiza directamente sobre el capilar, es decir que el mismo capilar actúa como celda de detección al quitarle una porción de poliamida, dejando libre la sílice fundida que es transparente al UV-VIS (Cruces, 1998). El tipo de detector seleccionado dependerá de los analitos a determinar y, siempre que se pueda, se escogerá aquel que proporcione una sensibilidad elevada para todos los compuestos.

La detección con arreglo de diodos (DAD por sus siglas en inglés) consiste en un sistema con un lente acromático, una ventana libre de poliacrilamida en el capilar, donde se hace insidir luz de muchas longitudes de onda y finalmente donde la luz

transmitida es dispersada por una rejilla de difracción, pudiéndose monitorear una muestra a más de una longitud de onda (Castillo, 2005).

La gran ventaja de la EC frente a otras técnicas ampliamente difundidas como la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) es que en esta, la aplicación de los distintos modos de separación implica un cambio en la columna y en la fase móvil, mientras que todos los modos de EC, que permite separar componentes cargados y no cargados de muy distinta naturaleza, se llevan a cabo con el mismo capilar y cambiando, únicamente, el tipo de medio electroforético (Cruces, 1998).

7. METODOLOGÍA

7.1 Equipos

- ✓ Equipo de electroforesis capilar P/ACE MDQ, Beckman Coulter (Fullerton, CA, USA) con detector de arreglo de diodos DAD, y software 32 Karat 7.0.
- ✓ Desionizador de agua Milli-Q Direct, Merck Millipore, (Darmstadt, Alemania)
- ✓ Potenciómetros ION+ PH31 HACH, (Berlín, Alemania).
- ✓ Electrodo HI 1131 de vidrio combinado HANNA (Padua, Italia).
- ✓ Balanza analítica, BOECO, (Hamburgo, Alemania).
- ✓ Micropipeta, FinnpiPETTE 1-5 mL, LabSystems, (Lima, Perú).
- ✓ Micropipeta, FinnpiPETTE 100-1000 µL, LabSystems, (Lima, Perú).
- ✓ Micropipeta, FinnpiPETTE 20-200 µL, LabSystems, (Lima, Perú).
- ✓ Micropipeta, FinnpiPETTE 5-50 µL, LabSystems, (Lima, Perú).

7.2 Materiales

Papel filtro poro chico.

Capilar de sílice fundida de 50 µm, Polymicro Technologies, (Redmond, Oregon).

Acrodiscos NYLON 13 mm, 0.45µm, PALL, (USA).

7.3 Reactivos

Estándares de los principios activos (clave)

Paracetamol (P) 95%, (Proporcionado por Bayer, México).

Maleato de clorfeniramina (MC) 99.13 % (Proporcionado por Bayer, México).

Bromohidrato de dextrometorfano (BD) 99.56% (Proporcionado por Bayer, México).

Clorhidrato de fenilefrina (CF) 99.65% (Proporcionado por Bayer, México).

Bromohidrato de fenilefrina (BF) 100.55% (Proporcionado por Bayer, México).

Succinato de doxilamina (SD) 99.44% (Proporcionado por Bayer, México).

Estándares de productos de degradación

CNOx 90.3% (Bayer Luckenwald, Alemania).

DeNOx 98.1% (Bayer Luckenwald, Alemania).

DoNOx 95.3% (Bayer Luckenwald, Alemania).

4-AF 99.7% (Bayer Luckenwald, Alemania).
TH-4,6 99.7% (Bayer Luckenwald, Alemania).
TH-4,8 99.4% (Bayer Luckenwald, Alemania).

Productos comerciales (clave)

Alka Seltzer Plus Severe Cold & Flu (ASP-SCF).
Alka Seltzer Plus Non Drowsy (ASP-ND).
Alka Seltzer Plus Cold & Cough (ASP-CC).
Alka Seltzer Plus Cold Original (ASP-CO).
Alka Seltzer Plus Night Cold (ASP-NC).
Alka Seltzer Plus Cold Orange Zest (ASP-COZ).
Alka Seltzer Plus Cold Cherry Burst (ASP-CCB).
Tabcin Gripe (TG).
Tabcin Gripe Fuerte (TGF).
Tabcin Naranja (TN).
Contact Ultra
Desenfriol D
Tylex Flu
Vick Pyrena
LM6
XL-3

Trietanolamina, J.T.BAKER (Estado de México, México), ensayo de 99.9%.
Ácido ortho-fosfórico, MERCK (Estado de México, México), ensayo de 85%.
3-Aminofenol, FLUKA (Toluca, México), ensayo de 98%.
Peróxido de hidrogeno al 30%, MEYER (Ciudad de México, México), ensayo 30.8%.

7.4 Preparación de soluciones para la separación y caracterización de los espectros de absorción de las señales

Soluciones STOCK de productos de degradación (PD), principios activos (PA) y patrón interno (PI)

Se pesaron aproximadamente 10 mg de cada PD, PA ó PI y se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada para obtener soluciones de aproximadamente 6250 mg/L (Stock).

A partir de las soluciones anteriores, se prepararon las soluciones que se midieron por separado (Anexo A).

Mezcla modelo

Se preparó una mezcla modelo en solución acuosa de estándares tanto de principios activos como productos de degradación a una concentración de 400 mg/L. Para más detalles en la preparación ver Anexo A.

Productos comerciales estudiados

Los 10 comprimidos efervescentes estudiados, 7 de nombre comercial Alka Seltzer Plus (ASP) y 3 Tabcin, fueron proporcionados por la compañía Bayer de México S.A. de C.V. ubicada en Lerma, Toluca. De igual forma fueron enviados los placebos correspondientes para cada producto, así como todos los estándares de los principios activos (PA) y productos de degradación (PD).

El resto de los productos comerciales de antigripales, fueron adquiridos en la farmacia San Pablo.

Nota: Todos los productos de Bayer de México fueron sometidos a estudios de estabilidad en las cámaras de ésta empresa ubicada en Lerma, Edo. de México, mientras que el resto de los productos se sometieron a estabilidad en cámaras de FES-Cuautitlán ubicadas en las instalaciones del CAT, campo 3 durante 2 meses a 40°C y 75 % Humedad Relativa.

Preparación de las soluciones de los productos comerciales y sometidos a estabilidad.

Los efervescentes se prepararon disolviendo un comprimido efervescente en aproximadamente 10 mL de agua desionizada, posteriormente se sónico durante 30 minutos, se filtró y aforo a 20 mL con agua desionizada, antes de medir la solución se vuelve a filtrar con acrodisco de 45µm.

El caso de capsulas y/ o tabletas, se disolvió el contenido de una capsula o polvo equivalente de tableta, se filtró y aforo a 20 mL con agua desionizada.

Para el granulado se disolvió el contenido de un sobre (5 g) en agua desionizada se filtró a 20 mL y se midió.

Del medicamento en solución se tomaron 4 mL y se disolvieron en agua desionizada, se aforaron a 20 mL y posteriormente se midieron.

Preparación de la solución de degradación forzada.

Se disolvió un efervescente (ASP-SCF) en 20 mL de peróxido de hidrogeno al 30%¹, se puso a baño maría para eliminar el exceso de peróxido de hidrogeno, la solución resultante se aforo a 20 mL con agua desionizada y posteriormente se realizó una dilución de 5 mL de la solución de degradación forzada en 20 mL de agua desionizada.

En la tabla 5 se muestra un resumen de la composición reportada en el empaque de todos y cada uno de los productos analizados en el presente trabajo de tesis.

¹ (Sonawane, 2011)

Tabla 5. Composición de los 16 productos comerciales (Antigripales) analizados durante ésta Tesis.

PRODUCTO	CLAVE	Acetaminofen (Paracetamol) (mg)	Maleato de Clorfeniramina (mg)	Bromohidrato de Dextrometorfano (mg)	Clorhidrato de Fenilefrina (mg)	Aspirina (mg)	Bitartrato de Fenilefrina (mg)	Succinato de Doxilamina (mg)
ALKA SELTZER PLUS (ASP) – BAYER								
Alka Seltzer Plus Severe Cold & Flu	ASP-SCF	250	2	10	5	-	-	-
Alka Seltzer Plus Non Drowsy	ASP-ND	-	-	10	-	325	7.8	-
Alka Seltzer Plus Cold & Cough	ASP-CC	-	2	10	-	325	7.8	-
Alka Seltzer Plus Cold Original	ASP-CO	-	2	-	-	325	7.8	-
Alka Seltzer Plus Night Cold	ASP-NC	-	-	10	-	500	7.8	6.25
Alka Seltzer Plus Cold Orange Zest	ASP-COZ	-	2	-	-	325	7.8	-
Alka Seltzer Plus Cold Cherry Burst	ASP-CCB	-	2	-	-	325	7.8	-
TABCIN EFERVESCENTE (T) – BAYER								
Tabcin gripe	TG	-	2	-	-	324	8	-
Tabcin gripe fuerte	TGF	-	2	-	-	500	8	-
Tabcin gripe naranja	TN	-	2	-	-	338	7.8	-
OTRAS MARCAS								
Contact Ultra (GlaxoSmithKline)	-	500	2	-	5	-	-	-
Desenfriol D (Schering Plough)	-	500	2	-	5	-	-	-
Tylen Flu (Janssen Cilag)	-	500	12	10	10	-	-	-
Vick Pyrena (Procter & Gamble)	-	500	-	-	10	-	-	-
LM6 (Laboratorios Carnot)	-	8000	50	-	-	-	-	-
XL-3 Xtra Gripa y Tos (Progela)	-	250	2	10	5	-	-	-

Placebo de productos

Se prepararon dos soluciones para el estudio de placebo de ASP (tabla 6), las cuales se utilizaron posteriormente para comparar alguna señal existente de dicho placebo en las muestras de análisis.

Tabla 6. Preparación de soluciones de placebo para ASP (Alka seltzer plus).

Color	Peso (g)	Volumen aforo (mL H ₂ O)
Placebo Flu (PFLU)	0.7872	5
Placebo todos (PTD)	0.7877	5

El placebo flu corresponde al placebo utilizado en la preparación del medicamento antigripal alka seltzer severe cold & flu (ASP-SCF), por lo tanto este placebo solo se usa para analizar este producto, debido a que contiene una formulación diferente a los demás productos analizados.

En cambio para los efervescentes restantes que son: alka seltzer plus non drowsy (ASP-ND), alka seltzer plus cold & cough (ASP-CC), alka seltzer plus cold original (ASP-CO), alka seltzer plus night cold (ASP-NC), alka seltzer plus cold orange zest (ASP-COZ) y alka seltzer plus cold cherry burst (ASP-CCB) se utilizó en la preparación del medicamento el placebo denominado como placebo todos (PTD) ambos placebos fueron proporcionados por el fabricante.

7.4.1 Condiciones de Separación por Electroforesis Capilar.

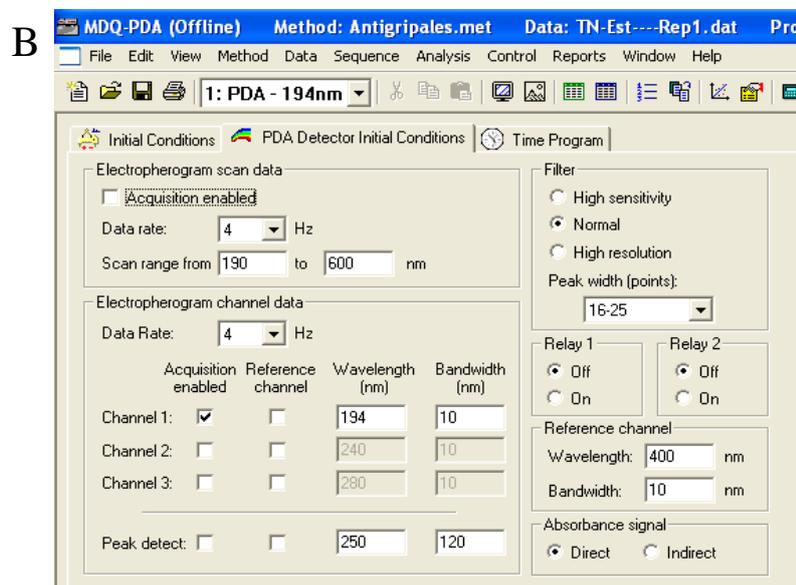
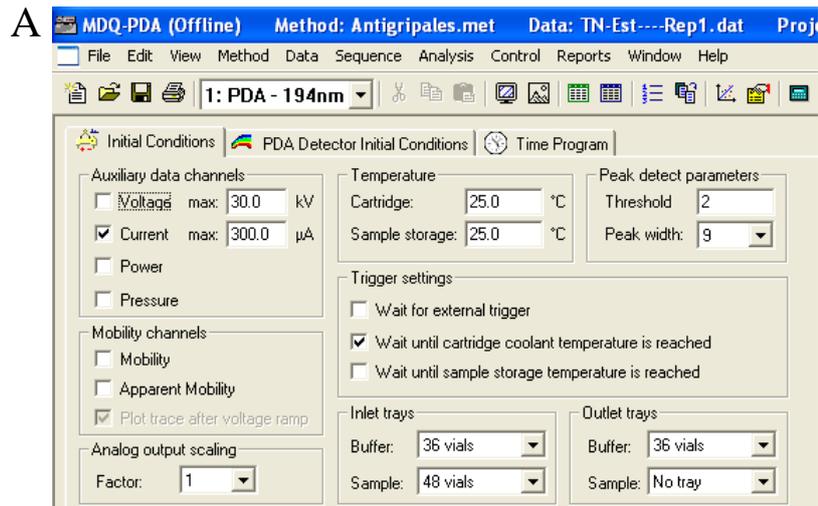
Preparación del buffer

Las condiciones óptimas de separación fueron usando un buffer de fosfatos 149 mM, el cual se preparó adicionando 505 μ L de ácido orthofosfórico en aproximadamente 18 mL de agua desionizada, posteriormente se agregaron 25 gotas de trietanolamina para así ajustarlo a un pH de 3.14, esta solución se llevó a un aforo de 50 mL con agua desionizada.

Condiciones de separación

Para llevar a cabo la separación de los principios activos de los productos de degradación en los antigripales se utilizó un capilar de sílice fundida con diámetro interno de 50 μ m, el largo total (LT) de dicho capilar fue de 52.1 cm, la longitud al detector (LD) de 42.1 cm, se inyectó 1 psi y se aplicó un voltaje de 25 kV, dando con esto una corriente aproximada de 60 μ A, la medición se llevó a cabo a una longitud de onda de detección de 194 nm.

A continuación se muestran las imágenes del método desarrollado con las condiciones asignadas al equipo de electroforesis capilar de la figura 4.0.



C

	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary
1		Rinse - Pressure	30.0 psi	20.00 min	BI:C1	BO:A1	forward
2		Inject - Pressure	1.0 psi	5.0 sec	SI:A1	BO:A1	Override, forward
3	0.00	Separate - Voltage	25.6 KV	25.00 min	BI:D1	BO:D1	0.17 Min ramp, normal polarity
4	0.17	Autozero					
5	25.00	End					
6							

Figura 4.0 Condiciones iniciales utilizadas en el equipo de EC donde A) condiciones de temperatura y fuente de poder, B) condiciones del detector y C) condiciones del método programado.

8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1 Desarrollo del Método Analítico indicativo de Estabilidad para 16 productos antigripales

8.1.1 Estudio de la influencia del pH

El pH es un factor muy importante a estudiar en las separaciones por electroforesis capilar, ya que determina la ionización de los analitos. Como se puede observar en el apartado 6.3.1 la gran mayoría de las estructuras de los analitos presentes en los antigripales tanto principios activos como productos de degradación, son compuestos básicos, pues poseen en su estructura grupos amino que pueden tener carga positiva a bajos pH's. Por tal motivo se realizó el estudio de la influencia del pH a valores bajos en el intervalo de 2.1 a 7.0 donde al poseer carga se comportarán como cationes. Al estar bajo la influencia del flujo electroosmótico su velocidad aumentará aún más migrando muy rápidamente al cátodo pasando por el detector, a valores altos de pH las moléculas de los principios activos y productos de degradación se encuentran neutros por lo que su movilidad sería cero eluyendo como señales traslapadas en un solo pico, descartándose por ende el trabajar en el intervalo alto de pH.

Para evaluar el efecto del pH en la separación de los principios activos y productos de degradación, se utilizó un buffer de fosfatos 50 mM (sin trietanolamina) ajustándolo a diferentes valores de pH usando soluciones de HCl o NaOH diluidas. Los electroferogramas obtenidos se pueden apreciar en la figura 5.0.

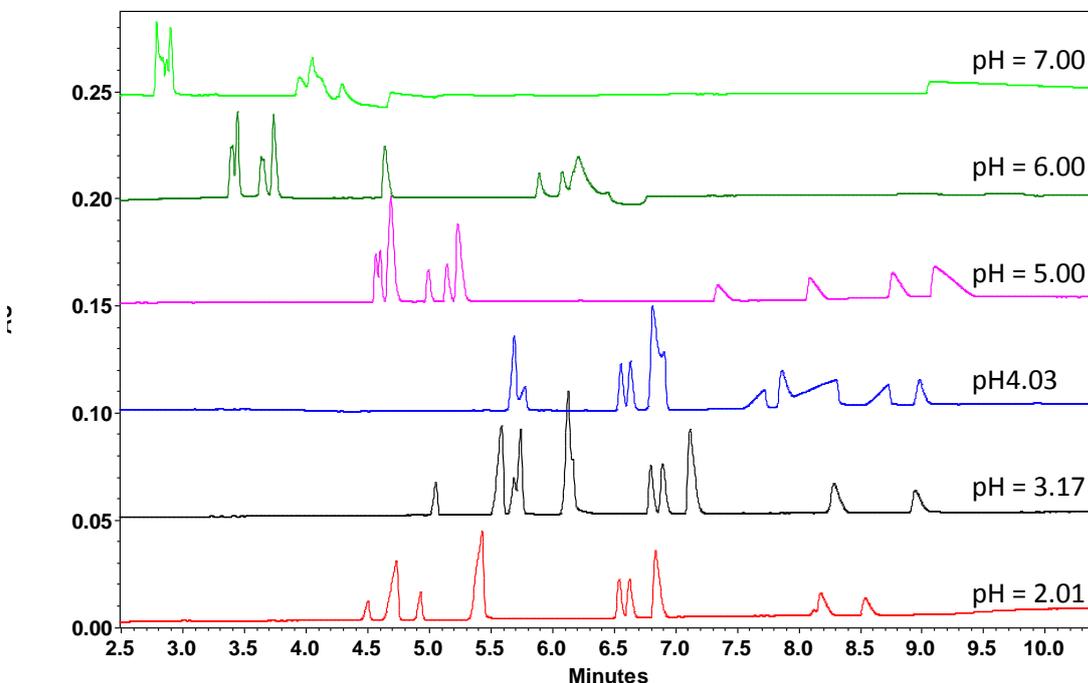


Figura 5.0 Electroferogramas de la separación obtenida de la mezcla modelo a distintos valores de pH del buffer de separación.

Como se puede observar en la figura 5.0, el pH en el cual se aprecian más picos separados es el que corresponde al electroferograma de pH=3.17 donde el flujo electro-

osmótico disminuye permitiendo a los analitos permanecer más tiempo dentro del capilar para poder ser separados, por tal motivo se usó este valor de pH para la separación de los principios activos y productos de degradación.

8.1.2 Estudio de la influencia de la concentración de trietanolamina

La adición de trietanolamina al buffer se realiza con la finalidad de disminuir el flujo electroosmótico (EOF) que se genera al utilizar un capilar de sílice fundida alrededor de $\text{pH} = 3$, ya que es bien sabido que la trietanolamina al ser una amina pequeña a bajo pH se adsorbe reversiblemente en las paredes del capilar disminuyendo así el EOF hasta casi hacerlo nulo. Esto favorece la separación de los compuestos básicos que al ser cationes a bajo pH migran más lentamente al estar disminuido el EOF, permaneciendo durante más tiempo dentro del capilar donde tendrán más tiempo para separarse.

Para realizar el estudio de la influencia de la presencia de trietanolamina en el buffer de fosfatos, se realizaron una serie de experimentos donde se adicionaron al buffer 50 mM diferentes cantidades de trietanolamina, como se muestra en la figura 6.0.

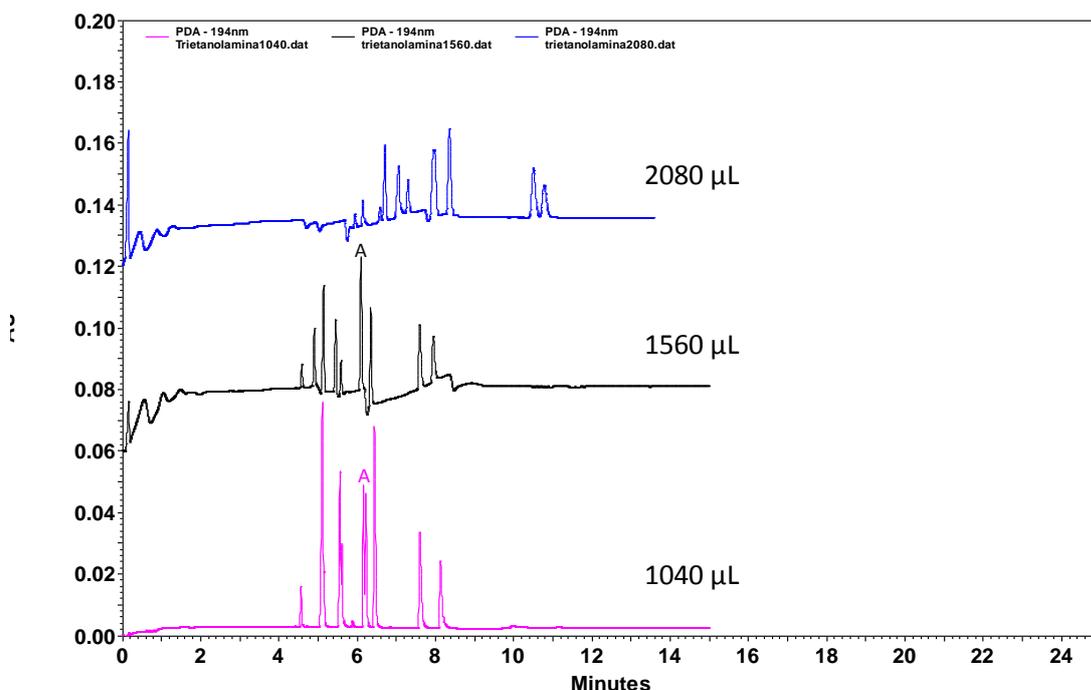


Figura 6.0 Comparación de electroferogramas con la adición de distintos volúmenes de trietanolamina al buffer de fosfatos 50 mM.

Se puede observar que utilizando una concentración mayor de trietanolamina las señales de los isómeros (señalada como A) se juntan y no se logra una buena separación, por lo tanto se determinó que la concentración de trietanolamina que se debe utilizar no debe ser mayor a 1040 µL lo que equivale a 0.1567 mM.

8.1.3 Estudio de la influencia de la concentración del buffer

Para la selección de la concentración óptima del buffer, se mantuvo constante la cantidad de trietanolamina añadida y se variaron las concentraciones del buffer de fosfatos pH 3.17, quedando como se puede observar en la figura 7.0.

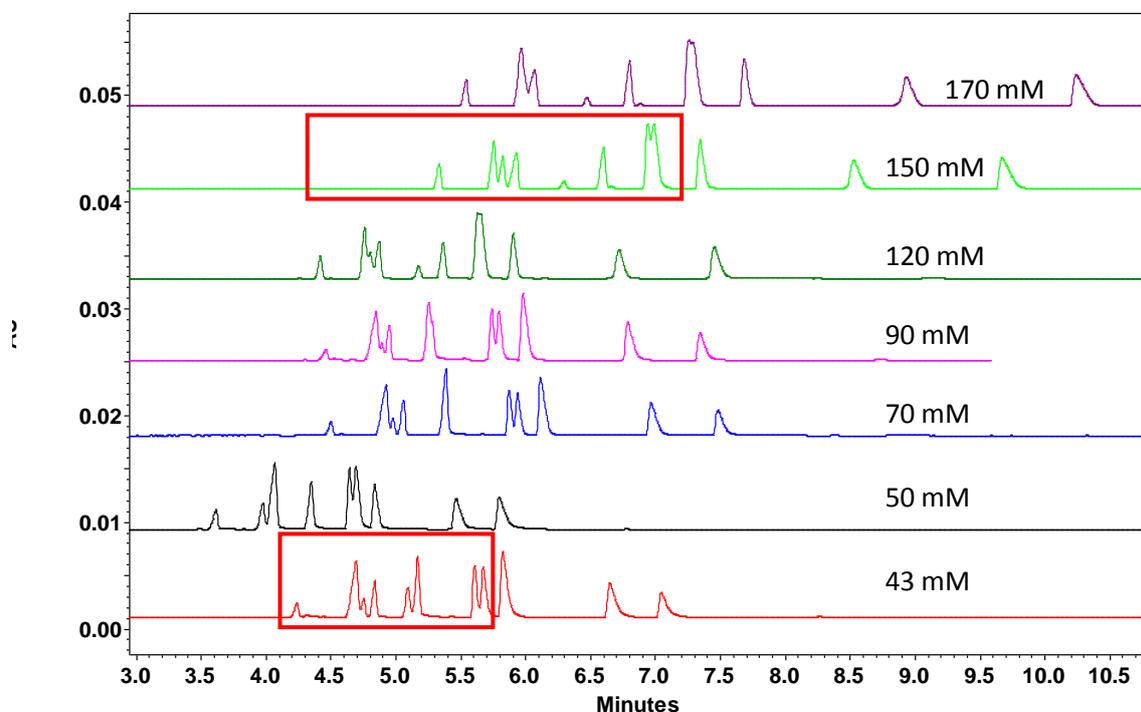


Figura 7.0 Electroferogramas del estudio de la influencia de la concentración del buffer en la separación de los PA y PD de los antigripales en una mezcla modelo.

En la zona del rectángulo se puede observar que al aumentar la concentración del buffer se tiene una mejor separación de los componentes de la mezcla, a una concentración de 150 mM donde se aprecian 11 señales distinguibles. A una concentración mayor (de 170 mM), se vuelven a traslapar las señales de los isómeros, los productos de degradación y principios activos, pudiéndose distinguir solo 9 picos. Por lo tanto se decidió utilizar una concentración de 150 mM de buffer de fosfatos como electrolito soporte, para de esta manera obtener la mayor cantidad de señales separadas.

8.1.4 Separación simultánea de la mezcla modelo de los principios activos y los productos de degradación por electroforesis capilar a las condiciones óptimas.

Para llevar a cabo la separación de los principios activos y los productos de degradación en los productos comerciales, se preparó una mezcla modelo de estándares en solución acuosa, la cual se midió a las condiciones óptimas siguientes:

- ✓ Concentración de buffer de fosfatos con trietanolamina (aproximadamente 48µL) 150 mM
- ✓ pH del buffer 3.14
- ✓ Voltaje de separación: 25 kV
- ✓ Longitud total del capilar: 52.1 cm
- ✓ Longitud al detector: 42.1 cm
- ✓ Diámetro interno del capilar: 50 µm
- ✓ Longitud de onda para la detección: 194nm
- ✓ Voltaje: 25 kV (si hay variación de la longitud del capilar ajustar el campo a 0.4798 kV/cm)

Primero se realizó la medida de cada uno de los principios activos, productos de degradación y patrón interno por separado (Anexo B) para obtener su espectro de absorción y tiempo de migración, dando como resultado la tabla 7:

Tabla 7. Tiempos de migración de los principios activos (PA), productos de degradación (PD) y patrón interno (PI).

NOMBRE	CLAVE	Tiempo de migración (tm) (minutos)
PRINCIPIOS ACTIVOS (PA)		
Maleato de clorfeniramina	MC	7.0
Bitartrato de fenilefrina o Clorhidrato de fenilefrina	BF CF	8.7
Succinato de doxilamina	SD	6.4
Bromohidrato de dextrometorfano	BD	9.9
PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN (PD)		
Clorfeniramina N-Oxidado	CNOx	8.0
Doxilamina N-Oxidada	DoxNOx	7.1
Dextrometorfano N-Oxidado	DexNOx	11.5
1,2,3,4-Tetrahidro-4,6-dihidroxi-2-metil-isoquinolina	TH-4,6	8.16
1,2,3,4-Tetrahidro-4,8-dihidroxi-2-metil-isoquinolina	TH-4,8	8.19
4-Aminofenol	4-AF	6.8
PATRONES INTERNOS (PI)		
3-Aminofenol o Clorhidrato de bromhexina	3-AF CB	7.5 13.22

Tras la identificación de los componentes de la mezcla, se obtiene la figura 8.0 con la designación de cada uno de los picos, de estos picos se encuentra cada uno de sus señales por separado en el anexo A.

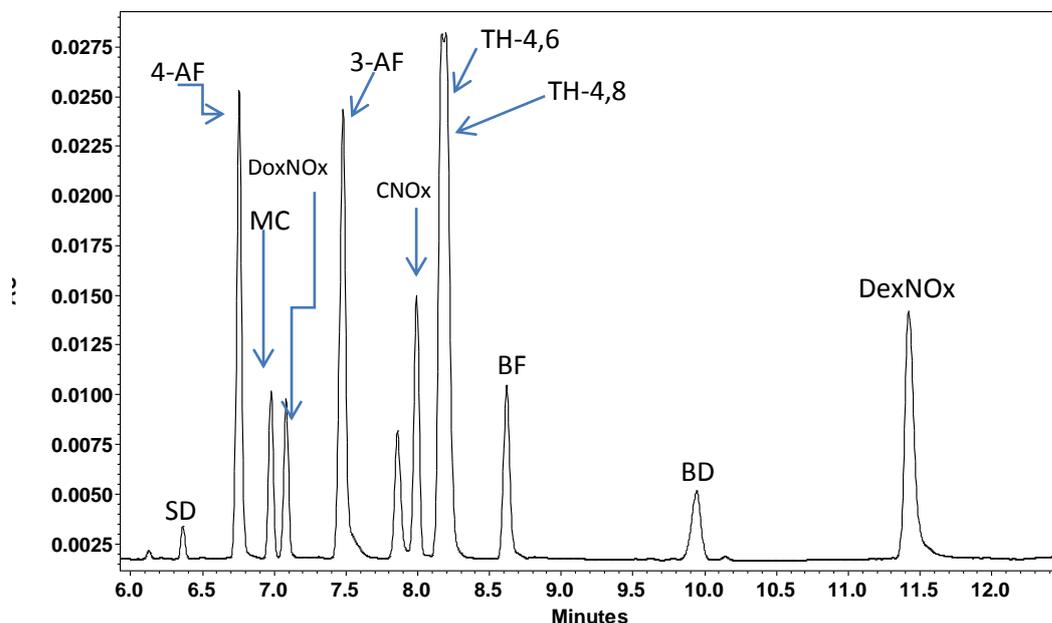


Figura 8.0 Electroferograma de la mezcla modelo con la identificación de cada uno de los picos. Condiciones: capilar de sílice fundida de 42.1 cm de longitud al detector (52.1 de long. total), 50 μm de diámetro interno, buffer de fosfatos 150 mM con trietanolamina (48 μL lo que equivale a 7.232×10^{-3} mM), pH 3.14, 25 kV, 25°C.

Como se puede observar en la figura 8.0, bajo las condiciones óptimas encontradas es posible la separación de todos los analitos y sus productos de degradación con excepción de los isómeros TH-4,6 y TH-4,8. Para lograr la separación de estos, es necesario realizar una corrida adicional a una menor concentración de buffer sin trietanolamina, es decir, utilizando un buffer de fosfatos 50 mM.

Cabe destacar que en el electroferograma anterior (figura 8.0) no se encuentra presente la señal de CB (clorhidrato de bromhexina) y en su lugar está la señal de 3-AF, debido a que se pensaba utilizar como patrón interno el 3-Aminofenol, pero este es nocivo para el ambiente² por lo tanto en la mezcla solo está la presencia de 11 componentes.

² *En su ficha de seguridad el 3-aminofenol es clasificado como H411 Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 Evitar su liberación al medio ambiente.

8.2 Resultados del análisis de los 16 antigripales bajo las condiciones óptimas encontradas del método analítico indicativo de estabilidad para los principios activos comerciales y sus productos de degradación.

Utilizando las condiciones óptimas encontradas, se procedió a medir los antigripales, obteniendo los electroferogramas de los 16 productos comerciales que se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Antigripales analizados con su forma farmacéutica y tipo de empaque.

#	Nombre del producto (clave)	Forma farmacéutica	Tipo de empaque
1	Alka Seltzer Plus Severe Cold & Flu (ASP-SCF)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
2	Alka Seltzer Plus Non Drowsy (ASP-ND)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
3	Alka Seltzer Plus Cold & Cough (ASP-CC)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
4	Alka Seltzer Plus Cold Original (ASP-CO)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
5	Alka Seltzer Plus Night Cold (ASP-NC)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
6	Alka Seltzer Plus Cold Orange Zest (ASP-COZ)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
7	Alka Seltzer Plus Cold Cherry Burst (ASP-CCB)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
8	Tabcin Gripe (TG)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
9	Tabcin Gripe Fuerte (TGF)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
10	Tabcin Naranja (TN)	Comprimido efervescente	Foil de aluminio
11	Contact Ultra	Tabletas	Encapsulado
12	Desenfriol D	Tabletas	Blister
13	Tylox Flu	Tabletas	Blister
14	Vick Pyrena	Granulado	Sobre de aluminio
15	LM6	Solución	Frasco de vidrio
16	XL-3	Cápsulas	Blister

PRODUCTO COMERCIAL ASP-SCF

El producto comercial ASP-SCF (Alka Seltzer Plus Severe Cold & Flu) es un comprimido efervescente que contiene en su formulación una mezcla de P (paracetamol), MC (maleato de clorfeniramina), BD (bromhidrato de dextrometorfano) y CF (clorhidrato de fenilefrina), para identificar la existencia de posibles productos de degradación se midieron las siguientes soluciones:

- A. Placebo flu (PFLU) solución acuosa
- B. Producto comercial en solución acuosa (PC)
- C. Producto sometido a estabilidad durante 3 meses a 40°C 75% HR por el fabricante en solución acuosa (PSE 3 meses).
- D. Producto sometido a estabilidad durante 36 meses a 40°C 75% HR por el fabricante en solución acuosa (PSE 36 meses).
- E. producto sometido a estabilidad durante 3 meses a 40° c 75% HR por el fabricante más CNOx

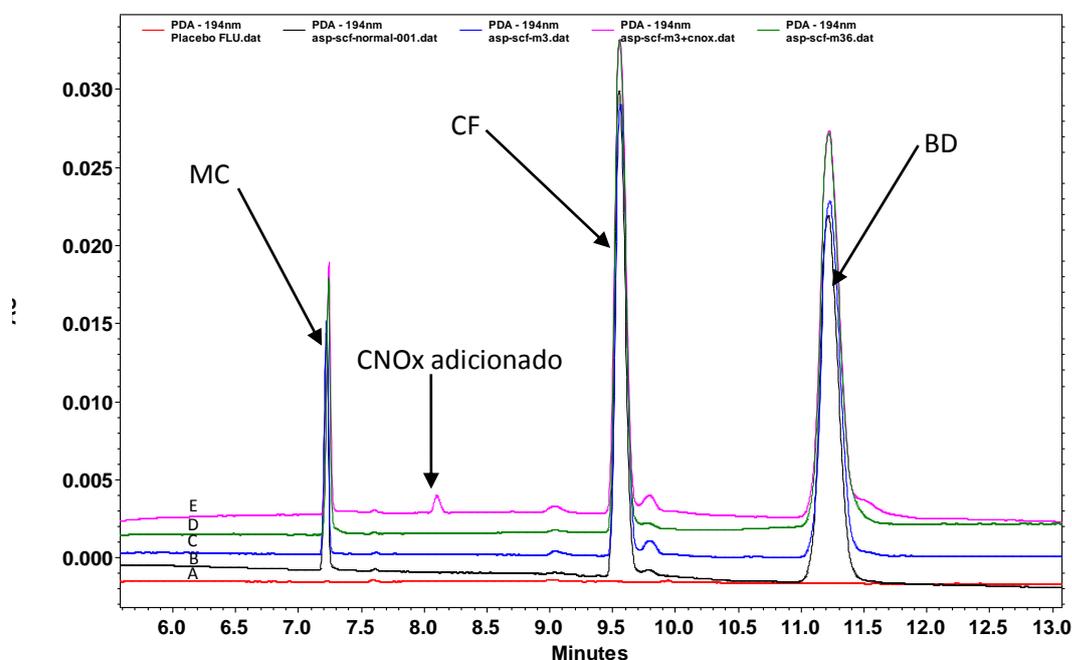


Figura 9.0 Electroferograma del producto ASP- SCF donde A: PFLU, B: PC, C: PSE 3 meses, D: PSE 36 meses y E: PSE3 meses + CNOx. Condiciones: como en la figura 8.0.

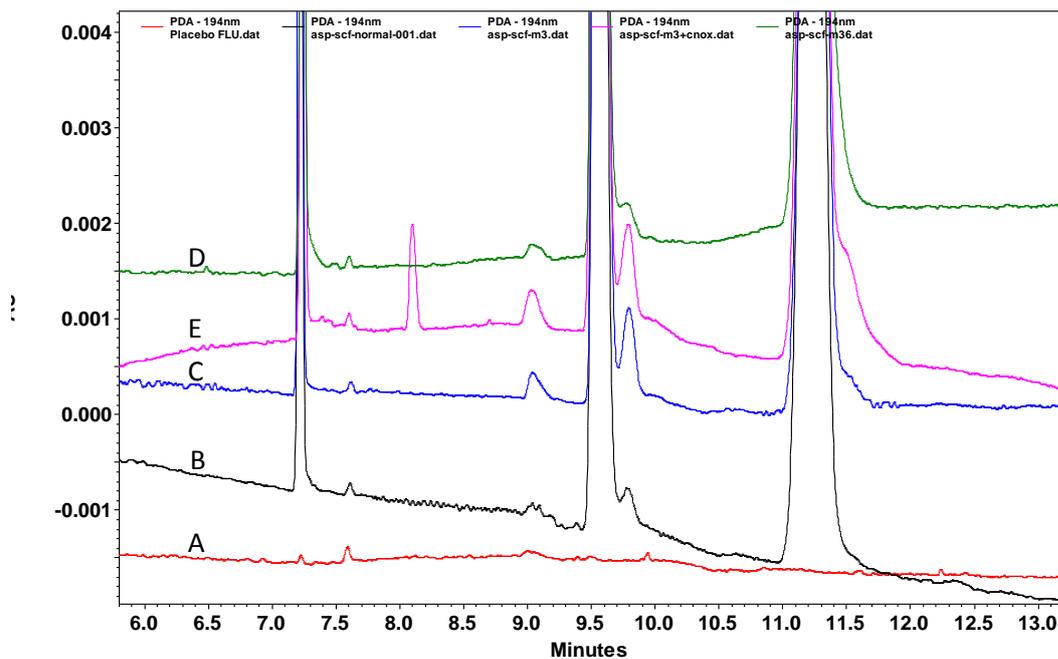


Figura 9.1 Zoom del electroferograma anterior

En la figura 9.0, se puede observar que no hay ninguna señal extra a las señales de los principios activos, y al realizar un zoom de la línea base (figura 9.1) se puede observar que las señales tanto a los 7.6 como a los 9.1 min entre los principios activos MC y CF, corresponde al placebo, donde también están presentes. Por lo tanto este producto no presenta productos de degradación hasta en 36 meses, 40 °C y 75% de humedad relativa (HR) (ver anexo D).

PRODUCTO COMERCIAL ASP-CCB

El producto comercial ASP-CCB es un comprimido efervescente que contiene en su formulación una mezcla de MC con Asp y BF, por lo que para identificar la existencia de posibles productos de degradación se midieron las siguientes soluciones:

- A) Placebo todos (PTD)
- B) Producto comercial (PC)
- C) Producto sometido a estabilidad (PSE M3 40° C/ 75% HR)

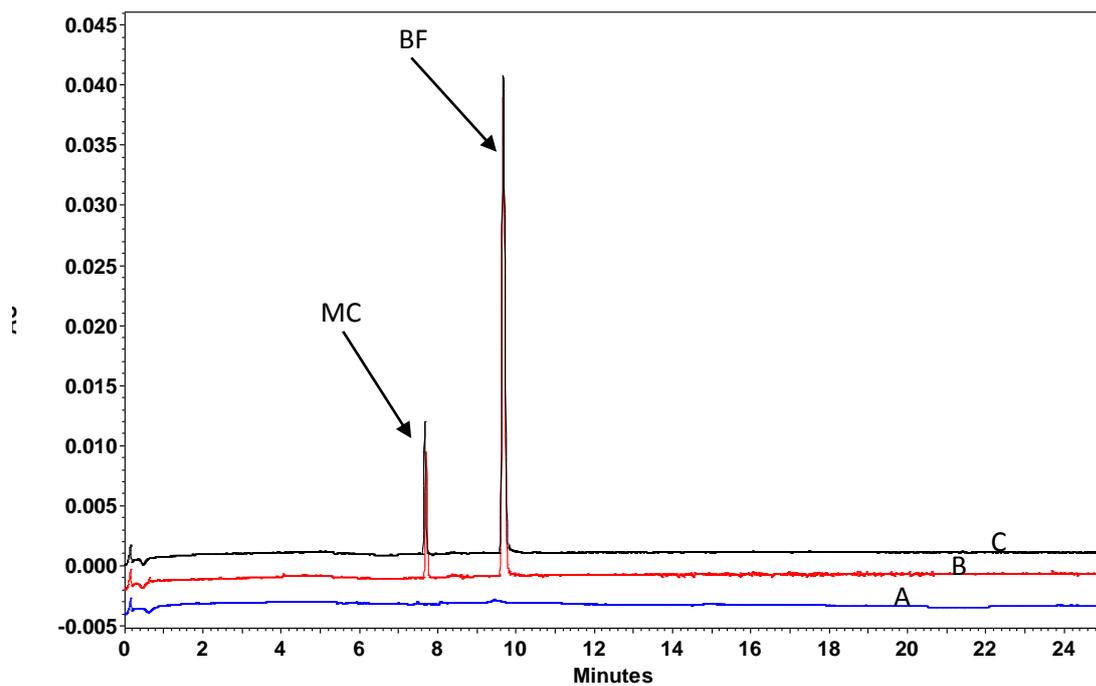


Figura 10.0 Electroferograma de ASP-CCB donde A: PTD, B: PC, C: PSE 3 meses. Condiciones: como en la Figura 8.0.

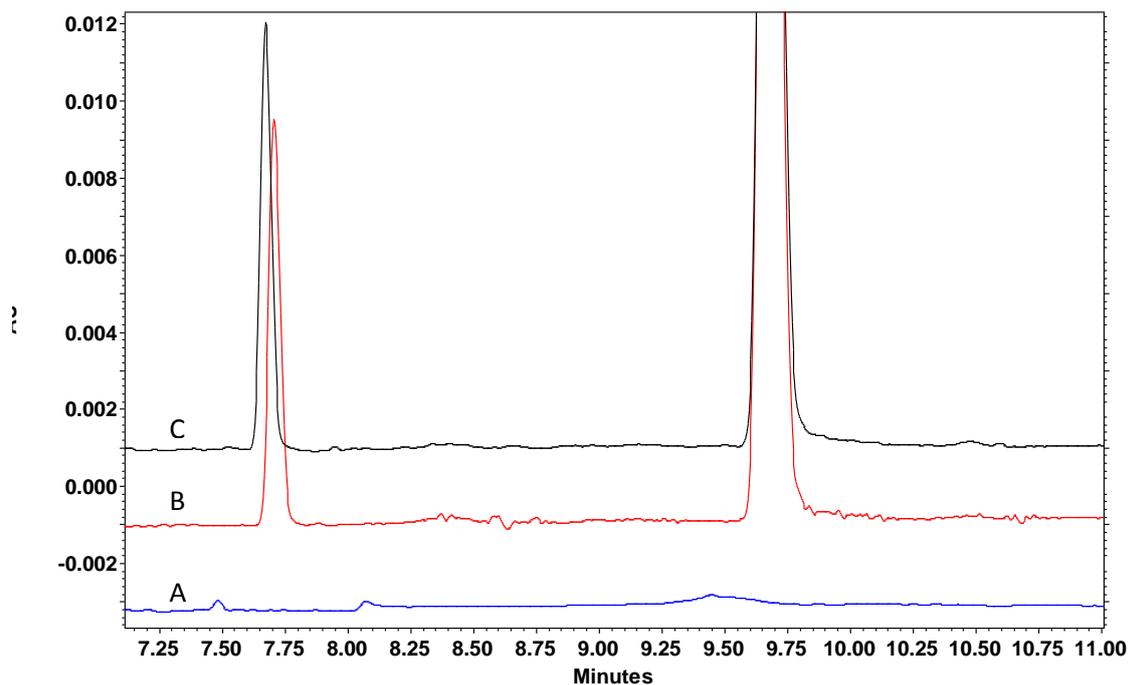


Figura 10.1 Zoom del electroferograma anterior

En los resultados obtenidos de la fig. 10.0 se puede observar que además de los principios activos característicos de ASP-CCB, no existe la presencia de algún otro pico adicional en la solución del producto sometido a estabilidad por 3 meses a 40 °C y 75 % HR, como se muestra en la figura 10.1, por lo que se puede considerar estable bajo esas condiciones (anexo I).

PRODUCTO COMERCIAL ASP-ND

Como se puede observar en la tabla 5, la composición de estos comprimidos efervescentes es de BD (bromohidrato de dextrometorfano), Asp (aspirina) y BF (bitartrato de fenilefrina), por lo tanto los productos de degradación posibles esperados serían: DeNO_x, TH-4,6 y TH-4,8, para corroborar la presencia de estos compuestos en la muestra sometida a estabilidad por el fabricante se agregaron los estándares de los productos de degradación.

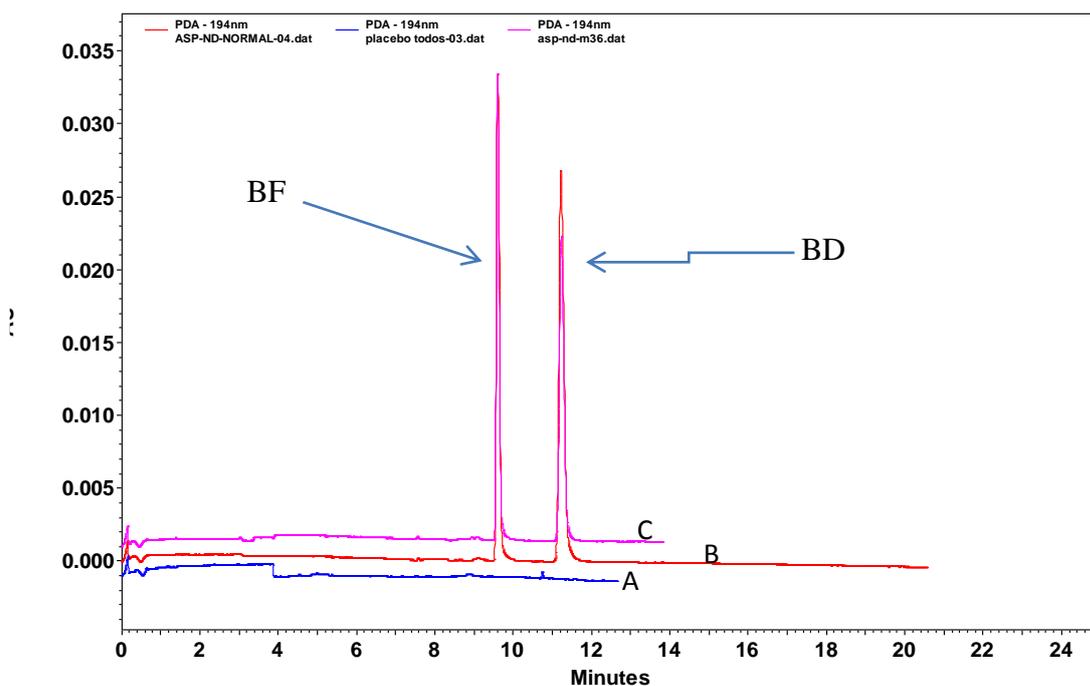


Figura 11.0 Comparación de electroferogramas de ASP-ND donde A: Placebo todos (PTD), B: Producto comercial (PC), C: Producto sometido a estabilidad acelerada por el fabricante (PSE M36) durante 36 meses a 40° C/ 75 % HR.

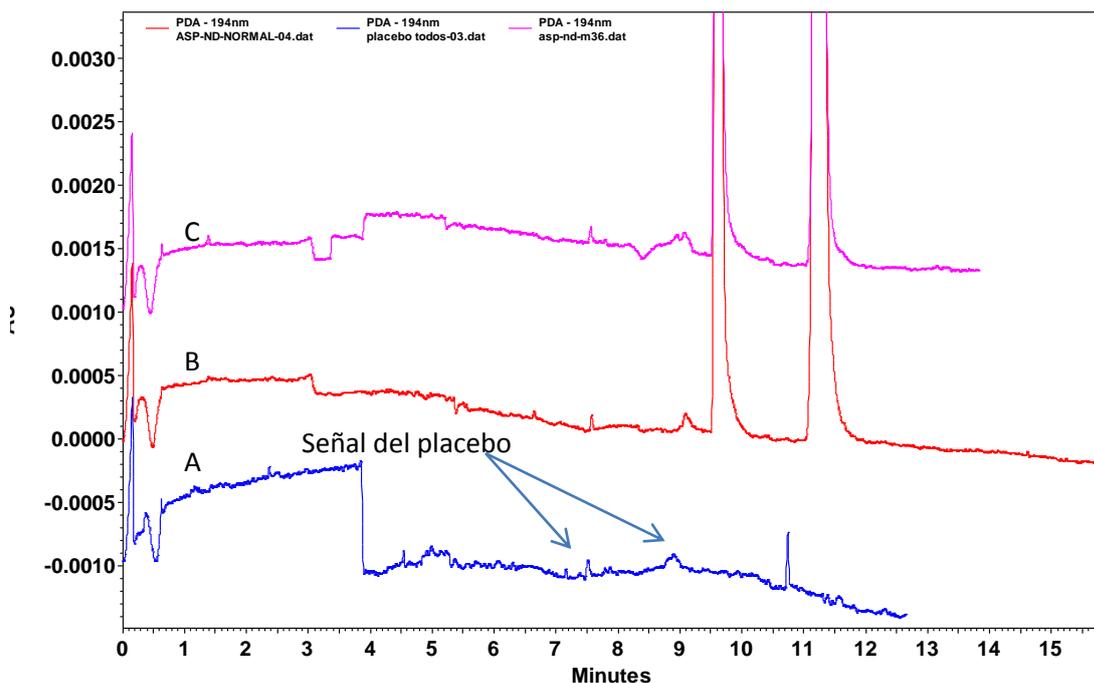


Figura 11.1 Zoom del electroferograma anterior.

En la figura 11.0, se observa que no hay presencia de ninguna señal adicional a los principios activos y al realizar un acercamiento a la línea base (fig. 11.1), se aprecian dos pequeñas señales a los 7.5 y 9 min que están presentes tanto en el placebo, como en los demás electroferogramas, por lo que no existen señales adicionales de posibles productos de degradación, pudiéndose considerar un producto estable durante 36 meses a 40° C y 75 % HR(ver anexo H).

La señal que está presente en el placebo a los 10.9 minutos puede ser debida a un sólido.

PRODUCTO COMERCIAL ASP-NC

En el caso del comprimido efervescente ASP-NC (Alka seltzer plus night cold), se sabe que en su formulación contiene los principios activos BD (bromohidrato de dextrometorfano), BF (bitartrato de fenilefrina), SD (succinato de doxilamina) y Asp (aspirina), debido a esto se buscó identificar alguno de los productos de degradación de dichos compuestos (ver anexo G), obteniéndose de forma general los siguientes electroferogramas:

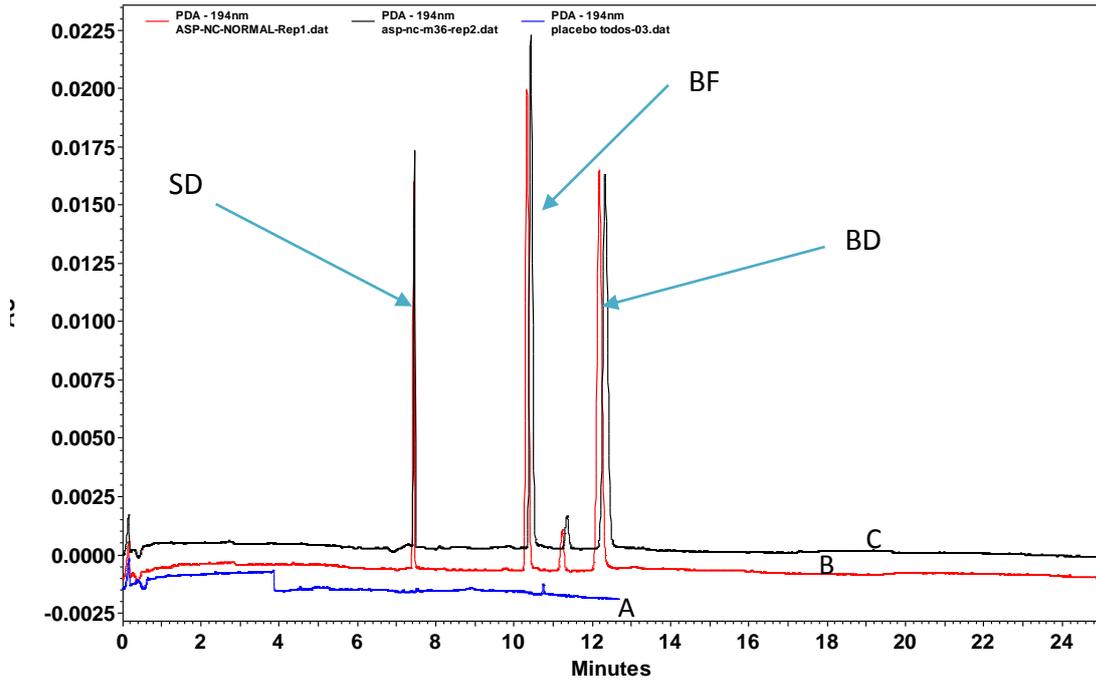


Figura 12.0 Comparación de electroferogramas de ASP-NC donde: A: Placebo todos (PTD), B: Producto comercial (PC) y C: Producto sometido a estabilidad acelerada por el fabricante durante 36 meses a 40°C 75% HR (PSE).

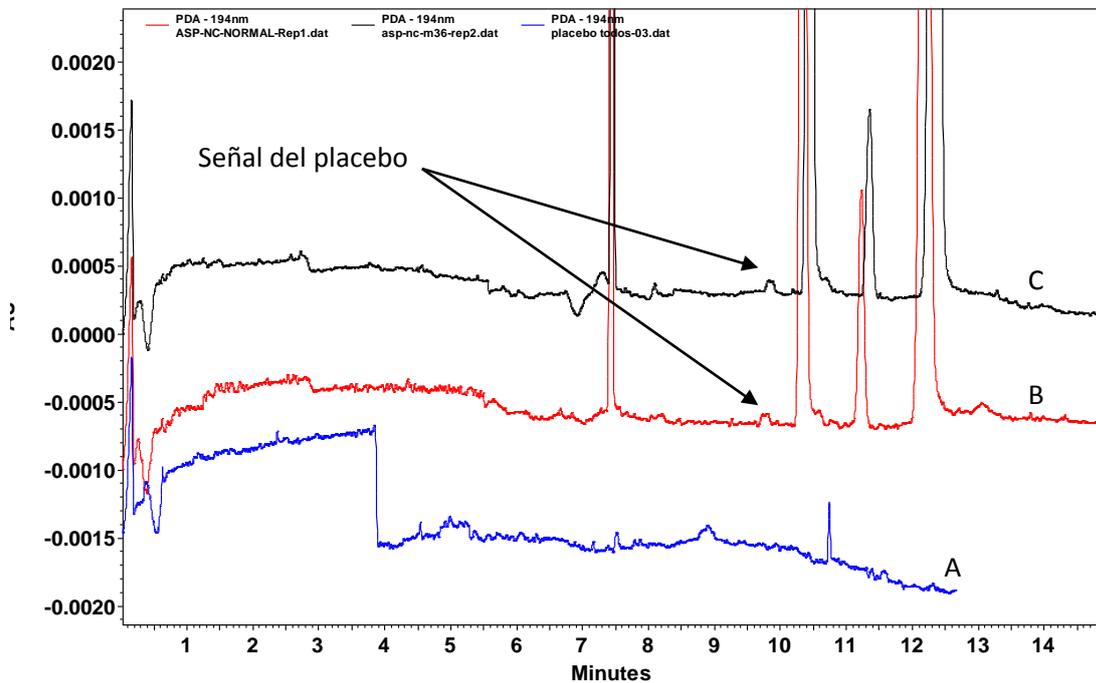


Figura 12.1 Zoom del electroferograma anterior.

Se puede observar en la figura 12.0, que hay una señal adicional entre los principios activos BF y BD, la cual se puede confundir con la señal que está en el placebo ($t_m=10.8$), pero como dicha señal no es repetible y puede deberse a la presencia de un sólido, se adicionaron los estándares de los posibles productos de degradación para descartar su presencia (ver anexo G), dando como resultado que esta señal no es debida

a alguno de estos, probablemente es originada por la degradación de algún excipiente (posiblemente el saborizante), para corroborar esto se deben realizar más pruebas.

Comparando el electroferograma B y C con el electroferograma del placebo (A) (figura 12.1), se puede observar que la señal presente a los 9.8 minutos es una señal característica del placebo, de modo que debido al alto contenido de sales en él se puede decir que el tiempo de migración de las señal se ve afectado y por ello no sale a los 8.8 minutos. Por lo tanto para el producto comercial ASP-NC no se encontró la presencia de ningún producto de degradación tras ser este sometido a estabilidad durante 36 meses a 40° C y 75 % HR.

PRODUCTO COMERCIAL ASP-CC

Debido a los principios activos contenidos en este producto comercial son MC, BD, Asp y BF, se puede saber que los posibles productos de degradación son: CNOx, DeNOx, TH-4,6 y TH-4,8, por lo que se procedió a identificar cada uno de ellos en la muestra sometida a estabilidad acelerada (anexo E) obteniendo la figura 13.0:

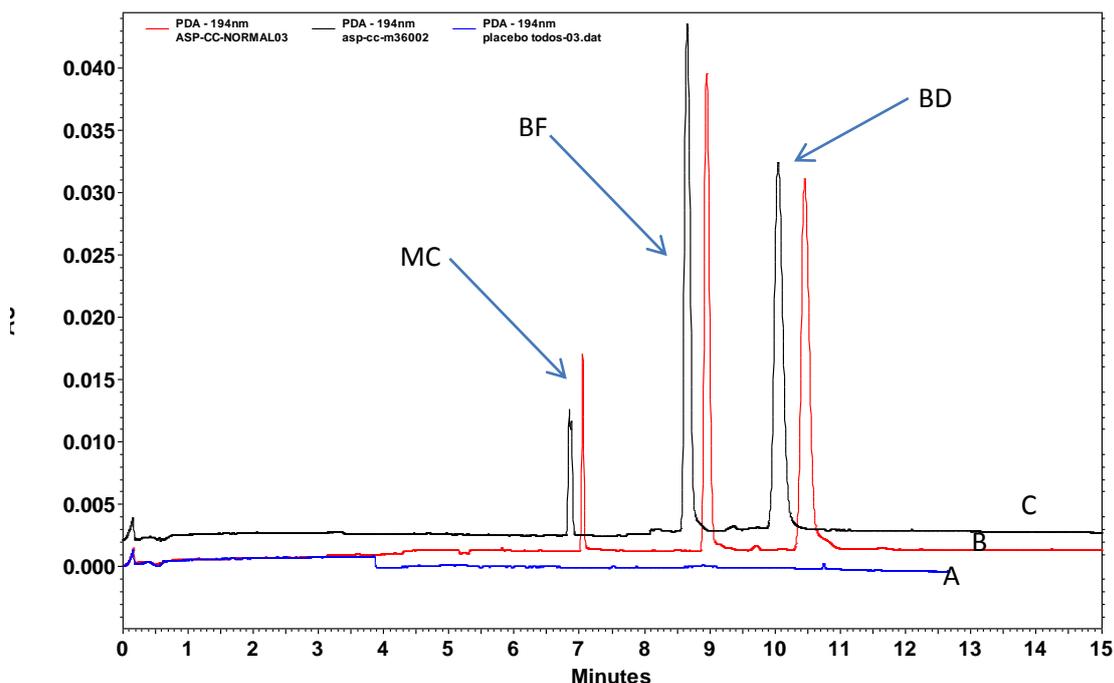


Figura 13.0 Comparación de electroferogramas del producto comercial ASP- CC, donde: A: Placebo todos (PTD), B: Producto comercial ASP-CC y C: Producto sometido a estabilidad 36 meses 40° C/ 75 % HR.

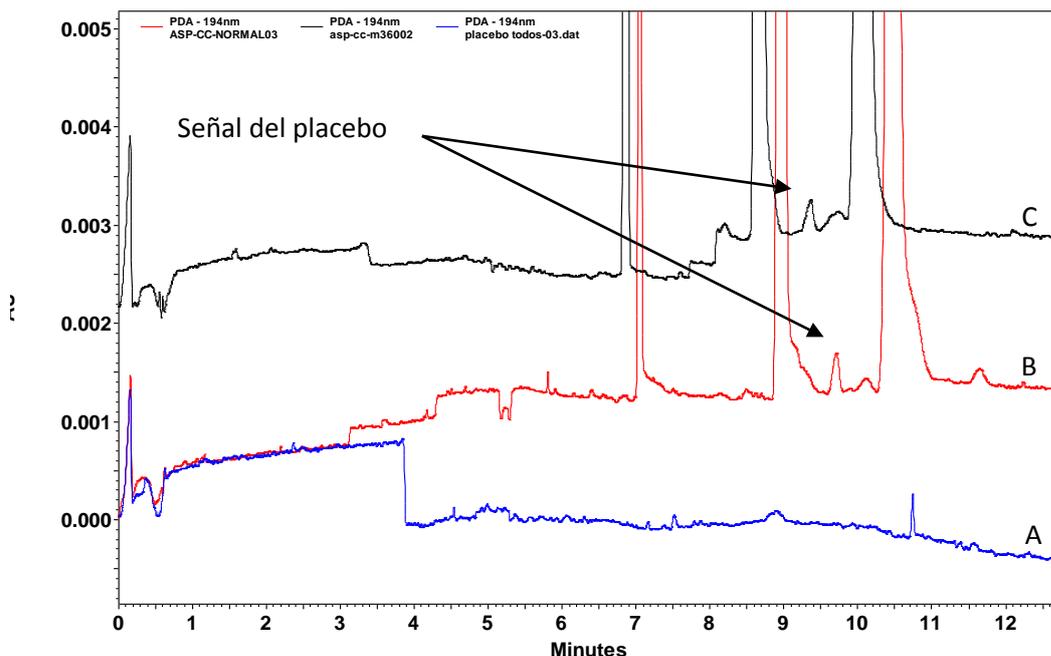


Figura 13.1. Zoom del electroferograma anterior

Se observa en la figura 13.1 (zoom) que hay la presencia de una señal (aprox. 9.5 min) entre los principios activos BF y BD tanto en el producto comercial como en el producto sometido a estabilidad durante 36 meses a 40° C y 75 % HR, se adicionaron los productos de degradación que se sospechaba estaban presentes en la muestra, obteniendo como resultado que no había presencia de productos de degradación derivados de los principios activos a las condiciones sometidas de estabilidad acelerada (anexo E) y debido a que el placebo presentó una señal a los 10.8 minutos y esta no es reproducible, se concluye que el producto ASP-CC no presenta productos de degradación, por lo que su formulación es estable.

Por lo tanto la señal que se aprecia a los 9.5 minutos, puede ser originada probablemente por la degradación de algún excipiente (colorante o saborizante) dentro de la formulación, para corroborar esto se deben realizar más pruebas.

PRODUCTO COMERCIAL ASP-COZ

El producto comercial ASP-COZ, por contener MC (maleato de clorfeniramina), BF (bitartrato de fenilefrina) y Asp (aspirina) puede contener los siguientes productos de degradación (anexo F) CNOx, TH-4,6 y TH-4,8 por lo que se analizó dicho producto comercial comparándolo con el placebo y el producto sometido a estabilidad acelerada obteniéndose los siguientes resultados:

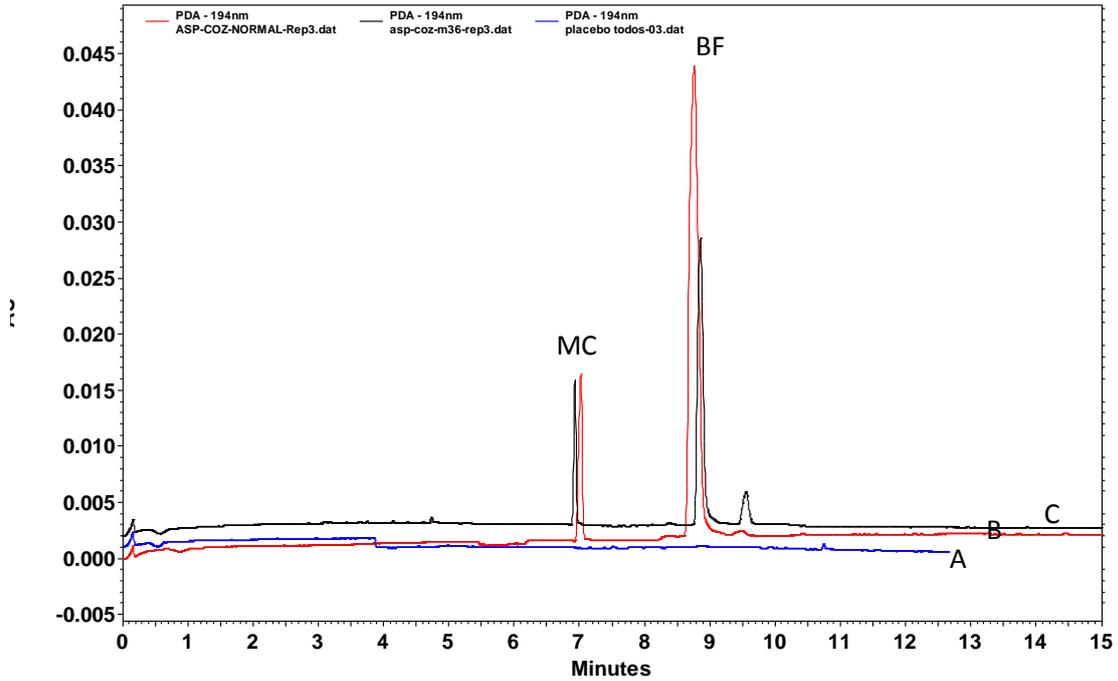


Figura 14.0 Comparación de electroferogramas del producto comercial ASP- COZ, donde A: Placebo todos (PTD), B: Producto comercial ASP-COZ y C: Producto sometido a estabilidad 36 meses 40° C/ 75 % HR ASP-COZ.

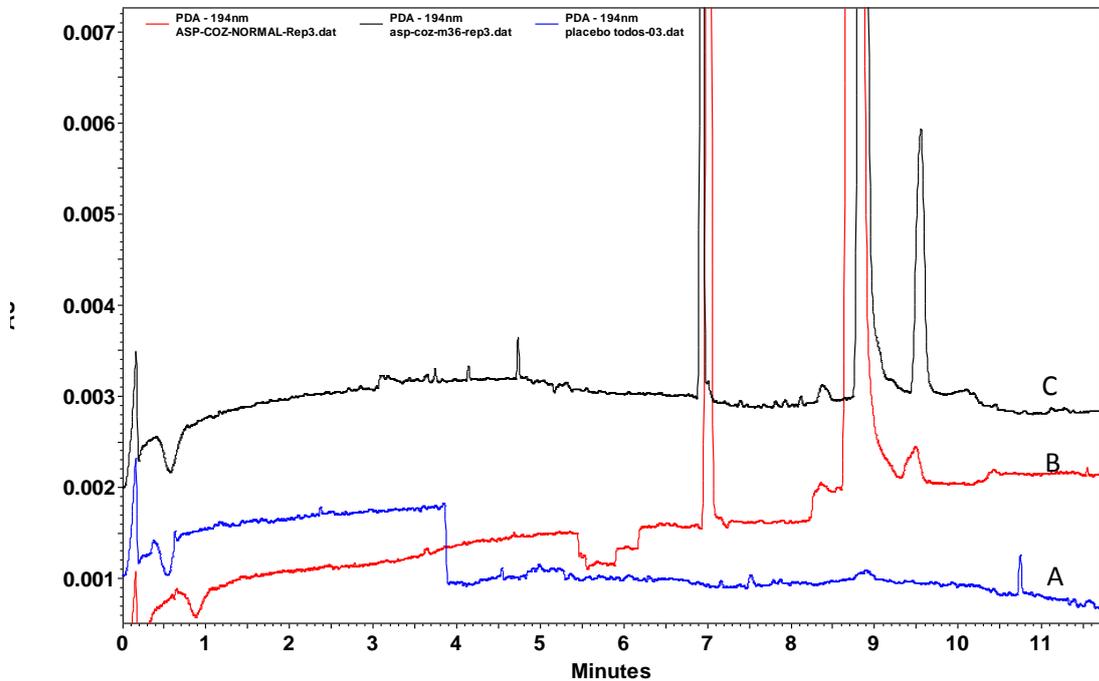


Figura 14.1 Zoom del electroferograma anterior

Se puede observar en la figura 14.1 que la señal a los 8.5 minutos se encuentra en ambos productos y también en el placebo (aunque un poco desfasado en tiempo, debido a ligeros cambios de viscosidad del medio). La señal a los 9.5 min aumenta de altura en el producto sometido a estabilidad acelerada, se sabe que no es un producto de

degradación de los principios activos, por lo que esta puede ser originada por la degradación de un excipiente (colorante o saborizante). Por lo tanto, se concluye que ASP-COZ no tiene productos de degradación.

La afirmación anterior se confirmó al medir la mezcla de isómeros a alto pH donde si hay una separación completa de estos y se midieron tanto el producto comercial como el producto sometido a estabilidad como se muestra en la figura 14.2 donde no hay presencia de señal alguna tanto en producto comercial como en el sometido a estabilidad.

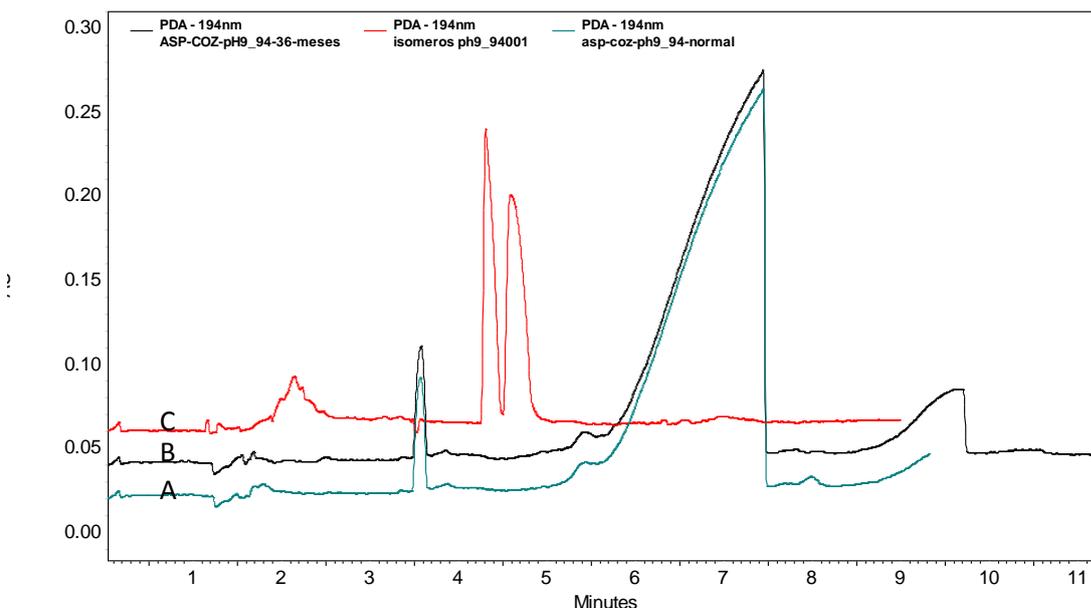


Figura 14.2 Estudio a pH 9.94 para saber si el producto ASP-COZ contenía isómeros donde: A: ASP-COZ producto comercial, B: ASP-COZ producto sometido a estabilidad durante 36 meses 45°C/ 75 % HR y C: Mezcla de isómeros

Para más detalles del medicamento antigripal ASP-COZ, ver anexo F.

PRODUCTO COMERCIAL TABCIN

Estudio de Tabcin Noche (TN)

El comprimido efervescente TN contiene en su formulación MC, BF y Asp. Para determinar si el TN tras estar sometido en cámaras de estabilidad acelerada forma productos de degradación, se analizó una tableta efervescente, la solución se midió y comparó con el producto comercial sin someter a estabilidad, dando como resultado la figura 15.0:

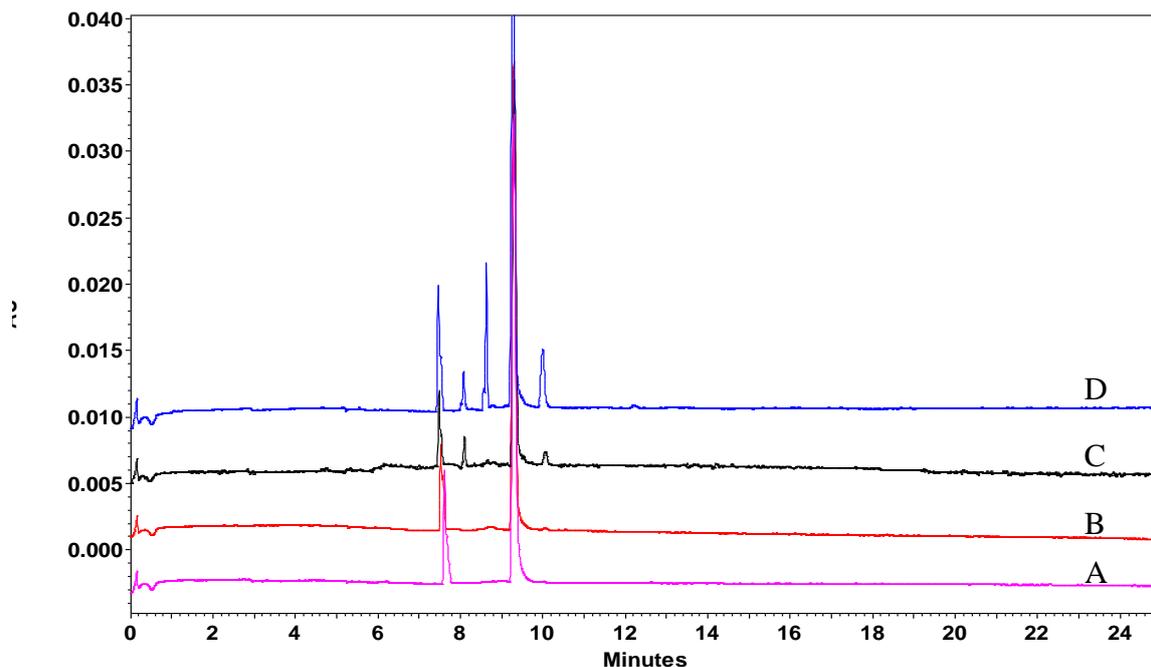


Figura 15.0 Comparación de electroferogramas del estudio de TN donde A: Producto comercial normal, B: Producto comercial sometido a estabilidad acelerada durante 3 meses a 40°C y 75% HR, C: Producto comercial sometido a estabilidad más adición de estándar interno (3-AF marcado como PI) y D: Producto comercial sometido a estabilidad más adición de estándar interno y producto de degradación (CNOx).

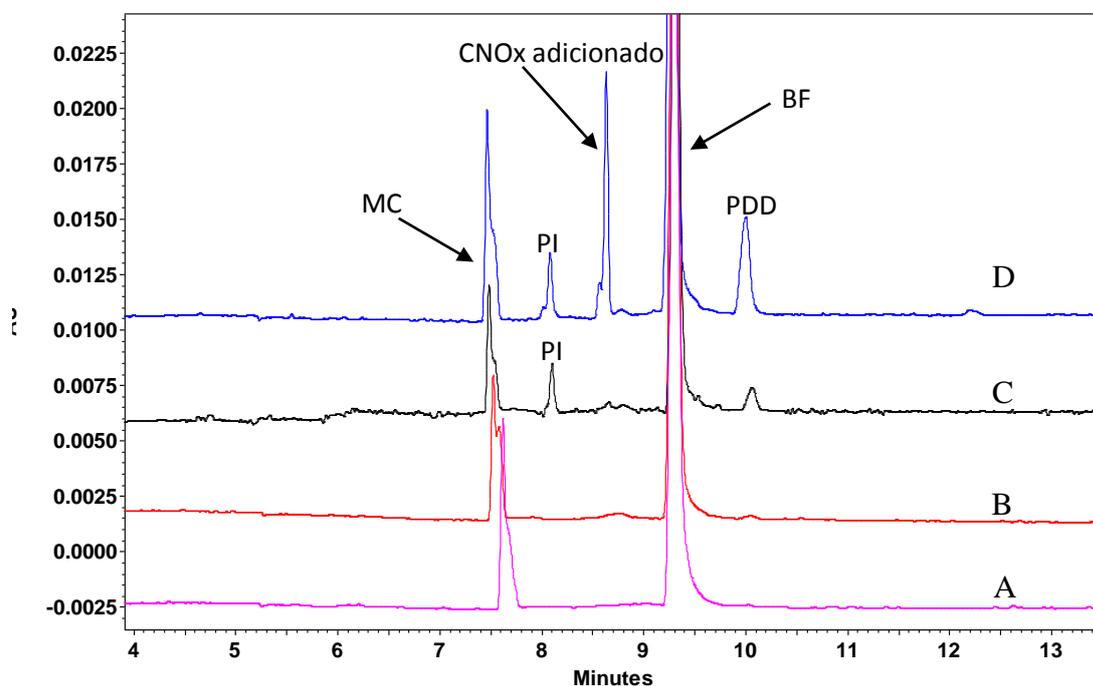


Figura 15.1 Zoom del electroferograma anterior

Se puede observar en la figura 15.1 que en los electroferogramas A del producto comercial y B del sometido a estabilidad acelerada durante 3 meses a 40°C/ 75 %HR, no existe ninguna señal adicional nueva, por lo que podemos afirmar que el producto es estable. Para confirmar lo anterior se adiciono el posible producto de degradación de maleato de clorfeniramina (MC) que es el CNOx, confirmándose que no se observa la

presencia de dicho producto de degradación, ya que la señal que se observa en el electroferograma C sigue apareciendo en el electroferograma D, por lo tanto no se tiene este producto de degradación en la muestra sometida a estabilidad acelerada por el fabricante. Con respecto a la señal designada como PDD, esta señal tampoco es debida a algún producto de degradación, ya que no aparece en el electroferograma B (del producto sometido a estabilidad) sino que se generó al adicionar el PI y aumento al adicionar el CNOx por lo que se cree es una sustancia relacionada (subproducto de síntesis) de alguno de esos analitos.

Estudio de TG

El TN que es un comprimido efervescente que contiene en su formulación los principios activos MC, BF y Asp. Se puede observar en la figura 12.0 que en el electroferograma del producto B. sometido a estabilidad presenta una señal nueva en un tiempo de migración aproximado de 8.9 min. Para identificar si esta señal corresponde a CNOx se adiciono junto con el PI en la traza C.

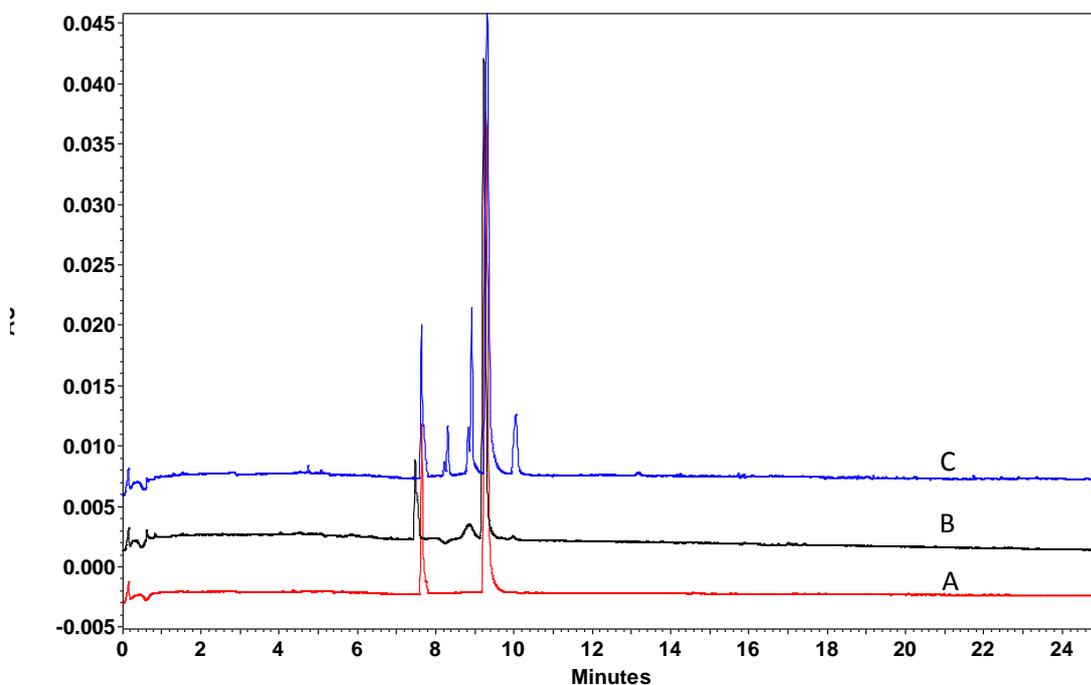


Figura 16.0 Comparación de electroferogramas de TG donde A: Producto comercial normal, B: Producto comercial sometido a estabilidad, C: Producto comercial sometido a estabilidad más adición de patrón interno (3-AF) y producto de degradación (CNOx).

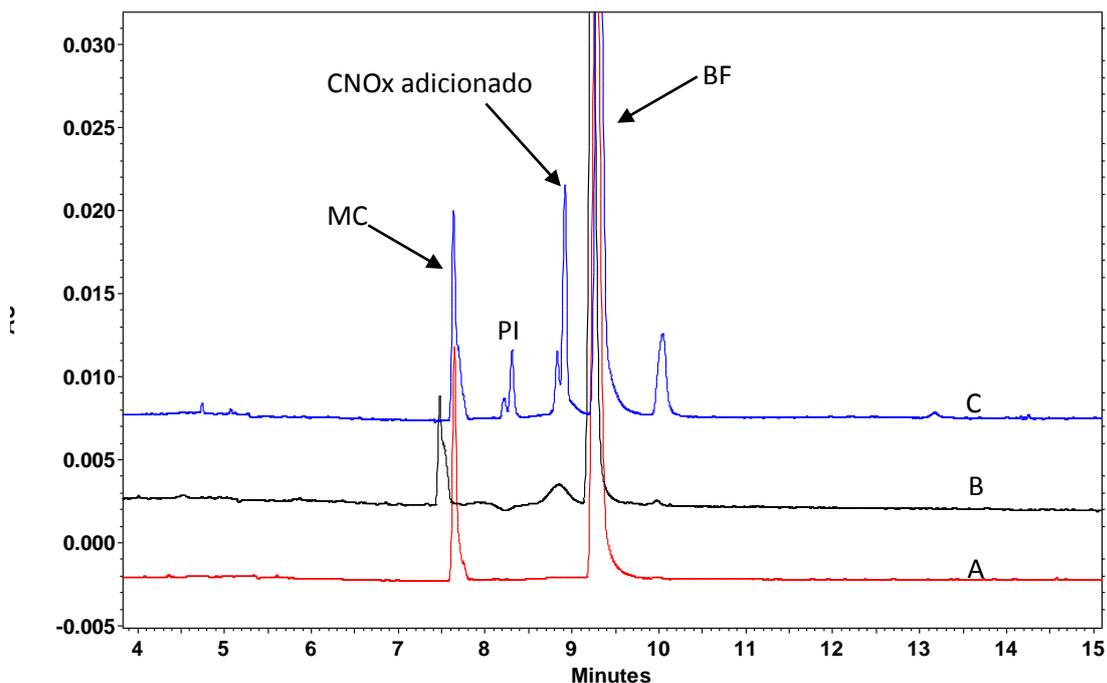


Figura 16.1 Zoom del electroferograma anterior

Se puede observar en la figura 16.1 (zoom) que la señal observada a los 8.9 min en la traza B del producto sometido a estabilidad, no corresponde al CNOx y que su adición junto con el PI en la traza C, provocan la aparición de una señal a los 10 min, posiblemente de una sustancia relacionada de estos compuestos adicionados. Debido a lo anterior, se siguieren posteriores estudios sobre la identidad de la señal a los 8.9 min, pudiendo ser esta provocada por algún componente del placebo (pues se confirmó que no pertenece a productos de degradación de los principios activos) y que deberá ser confirmado mediante un placebo sometido a estabilidad y con el cual no se contaba para este estudio. Se puede entonces concluir que los principios activos MC y BF son estables bajo las condiciones de estabilidad estudiadas en el producto TG.

Estudio TGF

Este comprimido efervescente contiene en su formulación los principios activos MC, BF y Asp. Comparando los electroferogramas A, B y C, se puede observar (figura 17.0) que a simple vista no se encuentra la presencia del producto de degradación CNOx en la muestra.

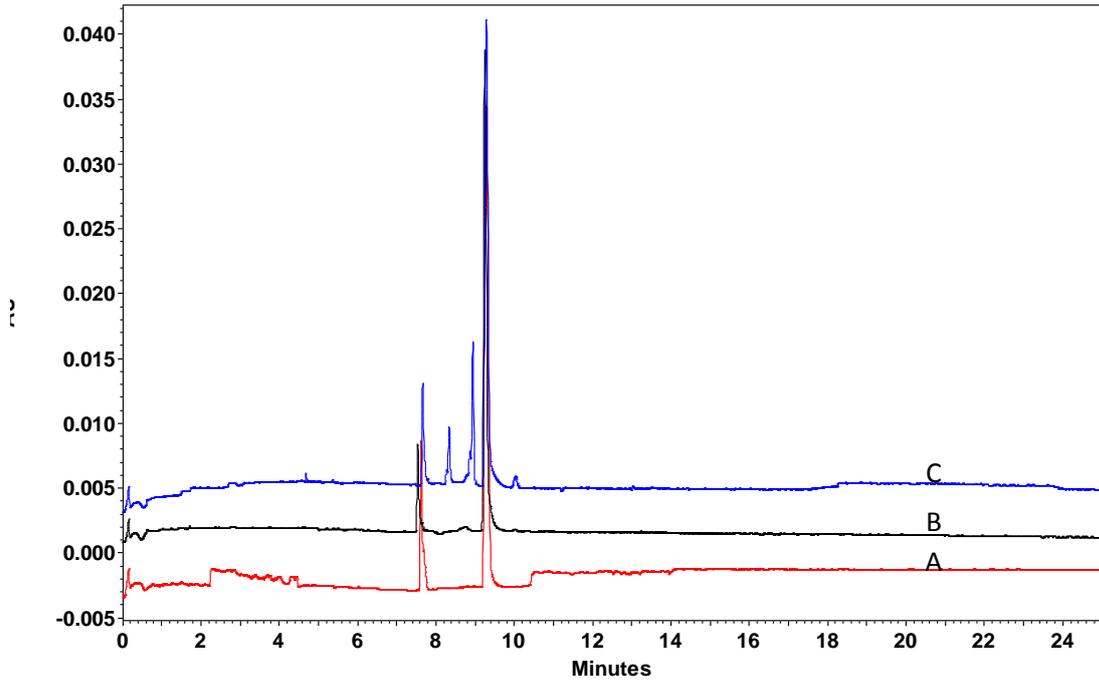


Figura 17.0 Comparación de electroferogramas de TGF donde A: Producto comercial normal, B: Producto comercial sometido a estabilidad, C: Producto comercial sometido a estabilidad de 3 meses 40°C/ 75% HR más adición de estándar interno (3-AF) y producto de degradación (CNOx).

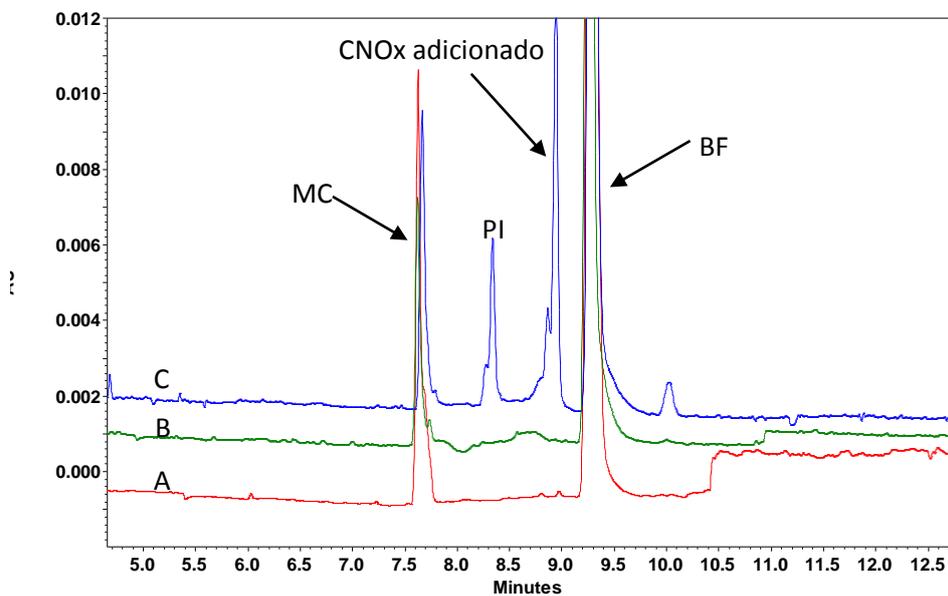


Figura 17.1 Zoom de electroferograma anterior

Al realizar un acercamiento (figura 17.1) de la línea base a la figura anterior se puede ver con mayor claridad que hay una señal pequeña en la traza B (del producto sometido a estabilidad) aproximadamente a los 8.8 min, que no corresponde al CNOx y que su adición junto con el PI en la traza C, provocan la aparición de una señal a los 10 min, posiblemente de una sustancia relacionada de estos compuestos adicionados, que se sospecha pudiera estar provocada por algún componente del placebo y que deberá ser confirmado mediante un placebo sometido a estabilidad y con el cual no se contaba para

este estudio. Se puede entonces concluir que los principios activos MC y BF son estables bajo las condiciones de estabilidad estudiadas en el producto TGF.

Estudio del placebo

Debido a que la mayoría de los ASP y TB presentan dos señales que pueden ser posibles productos de degradación se procedió a medir el placebo de ASP-FLU y el placebo de todos los demás productos analizados de ASP y TB, con el motivo de identificar alguna señal del placebo que interfiera en las mediciones, obteniéndose el siguiente electroferograma (figura 18.0):

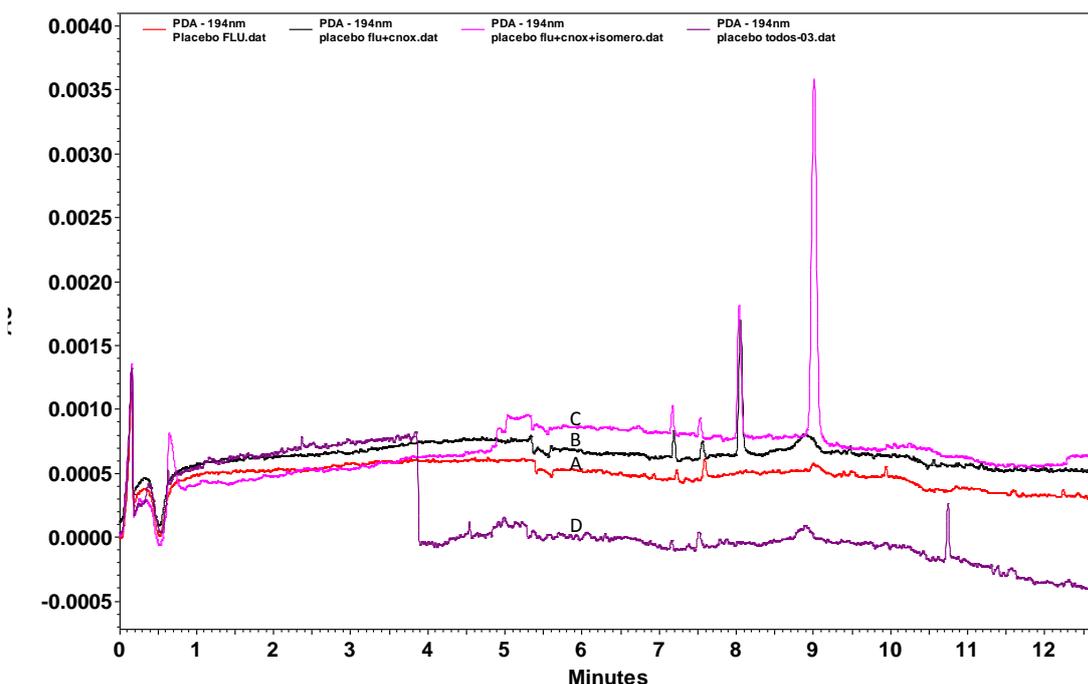


Figura 18.0 Electroferograma de la comparación de placebo de ASP y TB donde: A: Placebo ASP-FLU, B: Placebo ASP-FLU más CNOx, C: Placebo ASP-FLU más isómeros y D: Placebo ASP-TODOS

Se puede observar que hay diferencia entre el placebo FLU y el placebo todos (comparación de electroferogramas A y D) en el minuto 10.8, ya que se presenta una señal en este tiempo, esta señal puede ser debida a un sólido, ya que no es una señal reproducible.

Al placebo FLU se le agregó estándar concentrado de los productos de degradación CNOx e isómeros ya que en este se encuentran dos señales en un tiempo de migración de aproximadamente 7.5 y 9 y los productos de degradación antes mencionados podrían estar siendo confundidos con dichas señales.

Al analizar el electroferograma A con el B, se puede observar que tras la adición de CNOx siguen apreciándose las dos señales antes mencionadas en los tiempos de migración de aproximadamente 7.5 y 9, por lo tanto se puede decir que este producto de degradación si se encuentra presente en la muestra no interfiere ninguna señal del placebo con él.

Por otra parte al analizar el electroferograma B con el C, se puede apreciar que tras agregar el isómero la señal que aparece aproximadamente a los 9 minutos crece, por lo cual se debe tener cuidado al identificar los isómeros, debido a que para el caso de los ASP y TB se podrían estar confundiendo con las señales del placebo. Para corroborar si en realidad está la presencia de los isómeros en la muestra se debe realizar una medición de la muestra con un buffer de fosfatos de pH 9.94, ya que en este pH los isómeros se separaran dando dos señales distintas a la señal del placebo.

Degradación forzada

Para corroborar que los efervescentes pueden generar productos de degradación bajo condiciones extremas a partir de los principios activos que contienen, se sometió a degradación forzada el producto comercial Alka seltzer plus severe cold & flu (ASP-SCF), obteniendo el siguiente resultado (figura 19.0):

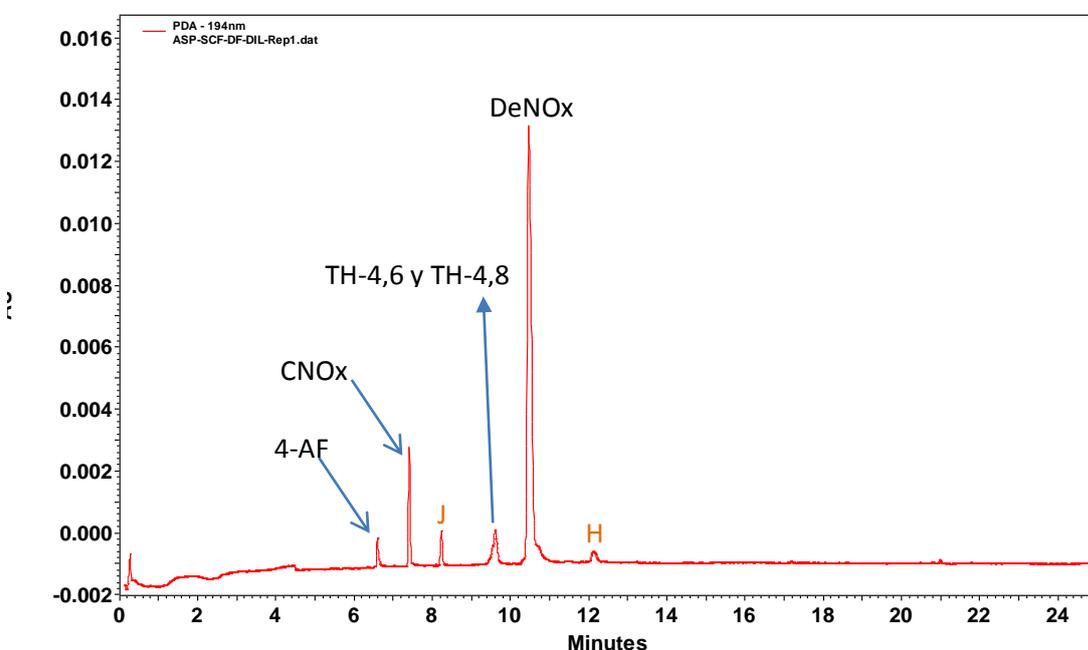


Figura 19.0 Electroferograma con asignación de productos de degradación (PD) obtenidos en la degradación forzada con peróxido de hidrogeno 30%.

Se puede observar en la figura 19.0 que tras realizar la degradación con peróxido de hidrogeno al 30% se forman productos de degradación como 4-AF proveniente del principio activo paracetamol (esta señal no está presente en la figura anterior debido a que se determina a otras condiciones), CNOx obtenido de la degradación de maleato de clorfeniramina y DeNOx proveniente de la degradación de bromhidrato de dextrometorfano (ver anexo U), con lo anterior se demostró que los productos efervescentes pueden presentar productos de degradación bajo ciertas condiciones en este caso sometidos a peróxido de hidrogeno al 30%.

Los picos designados como H y J son productos de degradación no identificados ya que no se contaba con más estándares de los antes estudiados (anexo O).

8.3 Estudio de nuevo patrón interno.

Debido a que el estándar interno (3-Aminofenol) que se había elegido inicialmente tiene una toxicidad aguda para el ser humano y toxicidad aguda y crónica para los organismos acuáticos, se buscó un nuevo estándar interno que fuera amigable con el ambiente y no sea tóxico, de modo que se analizaron como posibles estándares internos los siguientes compuestos: atenolol, ambroxol y bromhexina.

Se midieron por separado los posibles estándares internos, una vez que se tuvieron los electroferogramas se trasladaron para determinar cuál de ellos sería óptimo para las mediciones tomando en cuenta que no alargara el tiempo de análisis y que no se trasladara con las señales de los principios activos y los productos de degradación.

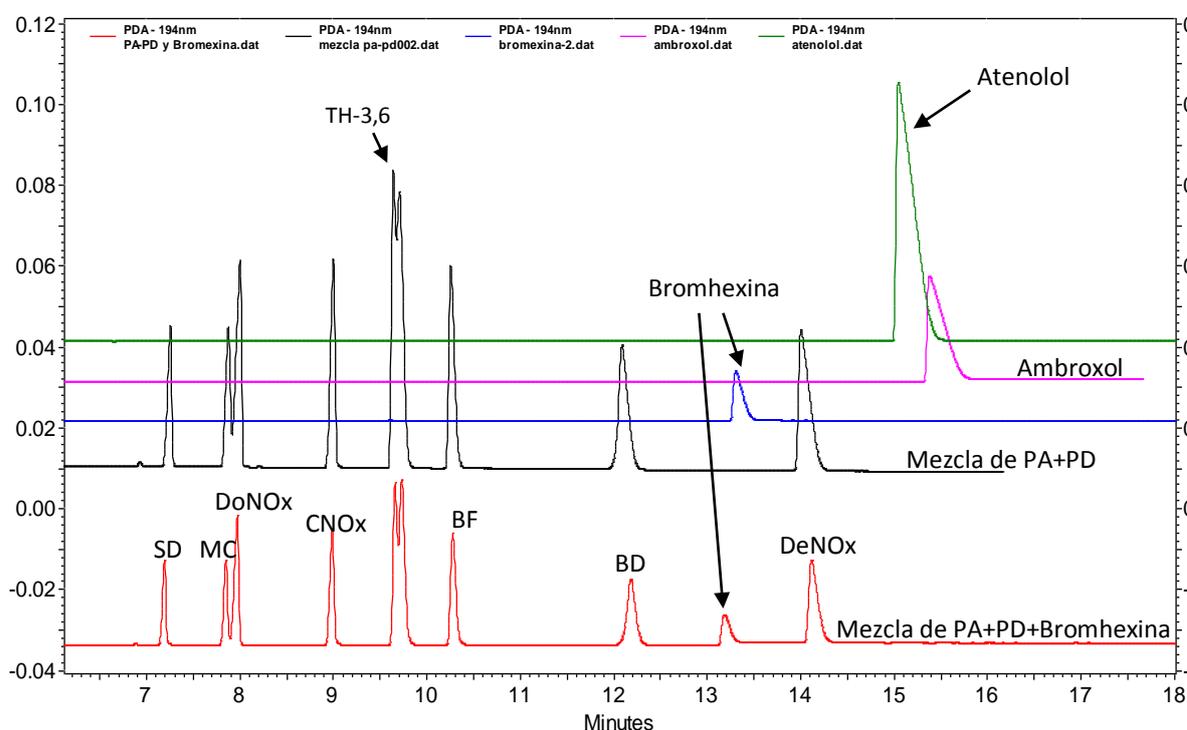


Figura 20.0 Comparación de electroferogramas para determinar el estándar interno óptimo.

De acuerdo a la figura 20.0 se determinó que los candidatos para ser estándar interno no interferían con ninguna señal, por lo tanto se podía elegir entre cualquiera de estos para ser estándar interno, pero debido a que el atenolol y ambroxol salían en un tiempo de migración más tardado (15.3 y 15.9 respectivamente), se decidió poner como estándar interno el clorhidrato de bromhexina, ya que este no retardaría el tiempo de análisis.

8.4 Estabilidad de otros medicamentos antigripales.

Debido a que los 7 comprimidos efervescentes de exportación Alka Seltzer Plus (ASP) y los 3 Tabcin no presentaron productos de degradación, se seleccionaron otros 6 antigripales comerciales para ser medidos con el método analítico indicativo de estabilidad desarrollado durante esta tesis.

Los 6 productos comerciales se sometieron a estabilidad acelerada en una cámara disponible en el CAT (Campo 3) a una temperatura de 40° C y 75 % HR de acuerdo a la NOM (NOM-073-SSA1, 2005) para posteriormente ser analizados por Electroforesis Capilar. Cabe hacer mención que se realizó el cambio del patrón interno (PI) de 3-aminofenol al nuevo que es el clorhidrato de bromhexina (CB) ya que el primero se considera como producto tóxico* para el medio ambiente. En los siguientes apartados se presentan los resultados obtenidos de cada uno de los productos.

Producto comercial XL-3Xtra Gripe y Tos (Cápsulas)

Las capsulas del producto XL-3 Xtra Gripe y Tos de Progela, S. A. que se comercializan empacados en blisters, contienen P, MC, CF y BD, por lo tanto se espera encontrar como productos de degradación 4-AF, CNOx, isómeros TH-4,6 y TH-4,8 y DeNOx.

Al realizar las mediciones de dicho medicamento antigripal, se obtiene el siguiente electroferograma (figura 21.0):

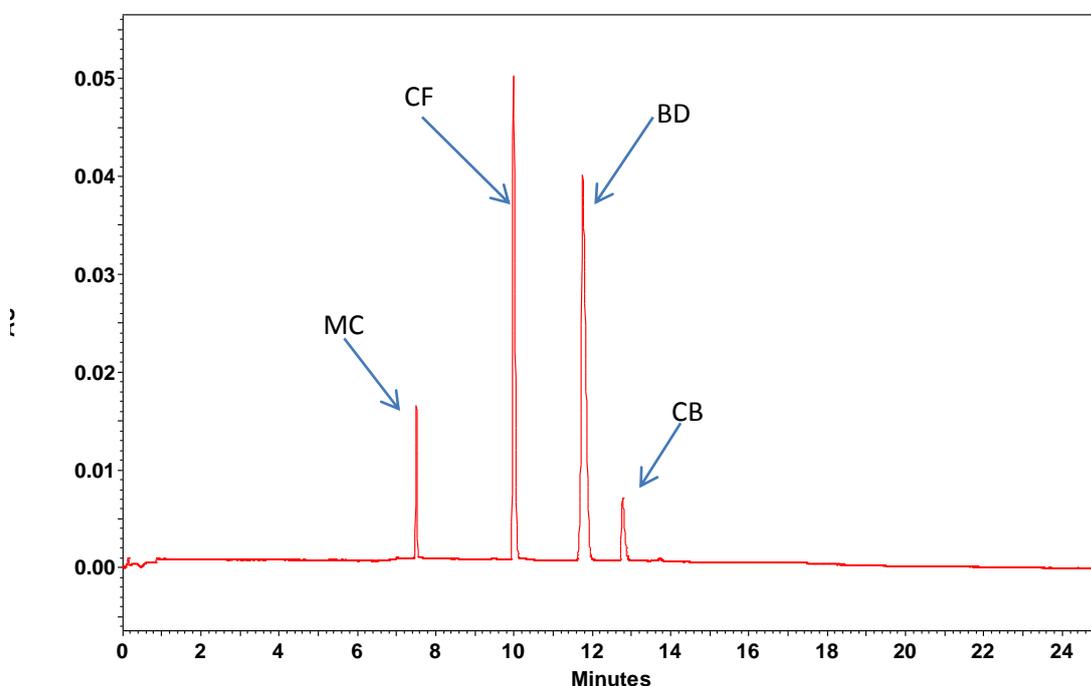


Figura 21.0 Electroferograma de XL-3Xtra con la asignación de los principios activos y el estándar interno CB. Condiciones: como en la figura 8.0.

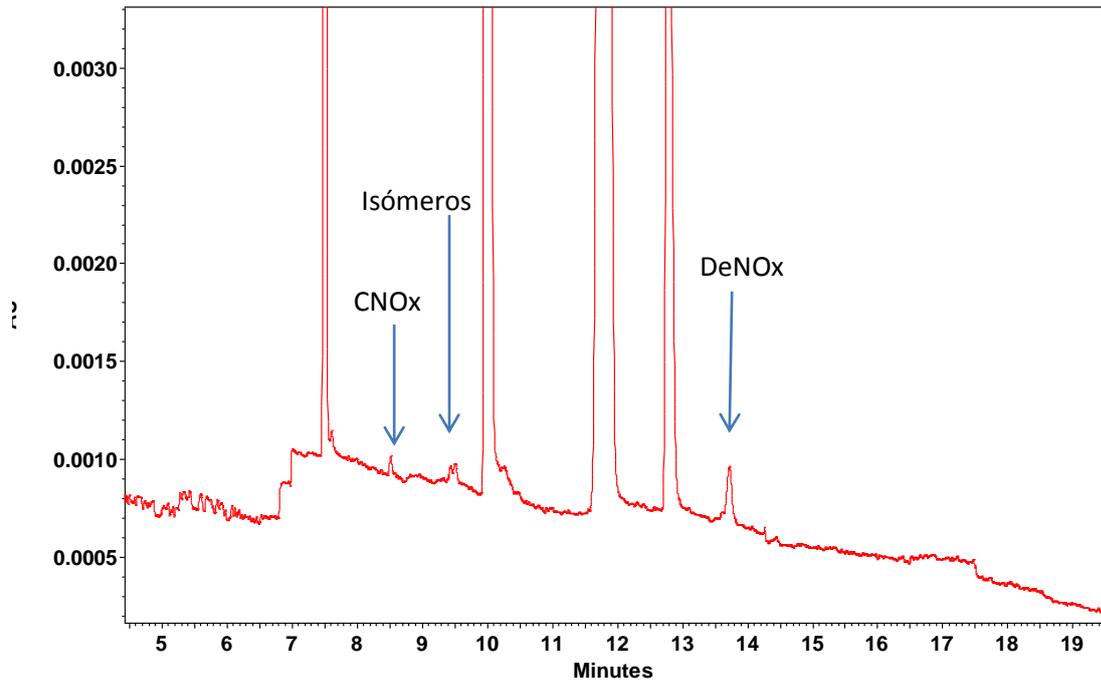


Figura 21.1 Electroferograma de XL-3Xtra con la asignación de los productos de degradación (acercamiento de electroferograma anterior).

De acuerdo a la figura 21.1 (zoom) se puede observar que si hay presencia de productos de degradación como CNOx, Isómeros y DeNOx en la muestra sometida a estabilidad acelerada de XL-3 Xtra Gripe y Tos. El estudio de la identificación de dichos productos de degradación se encuentra en el anexo J.

Producto comercial LM6 (Solución)

Para el caso de este medicamento, no se sometió a estabilidad acelerada, ya que este caducó en Julio de 2007, es un jarabe con una coloración amarillenta producido por los Laboratorios Carnot S.A. de C.V. Dicho jarabe es un producto pediátrico que contiene como principios activos P y MC, por lo tanto se espera tener como posibles productos de degradación a 4-AF y CNOx. Al medirlo se obtiene el siguiente electroferograma:

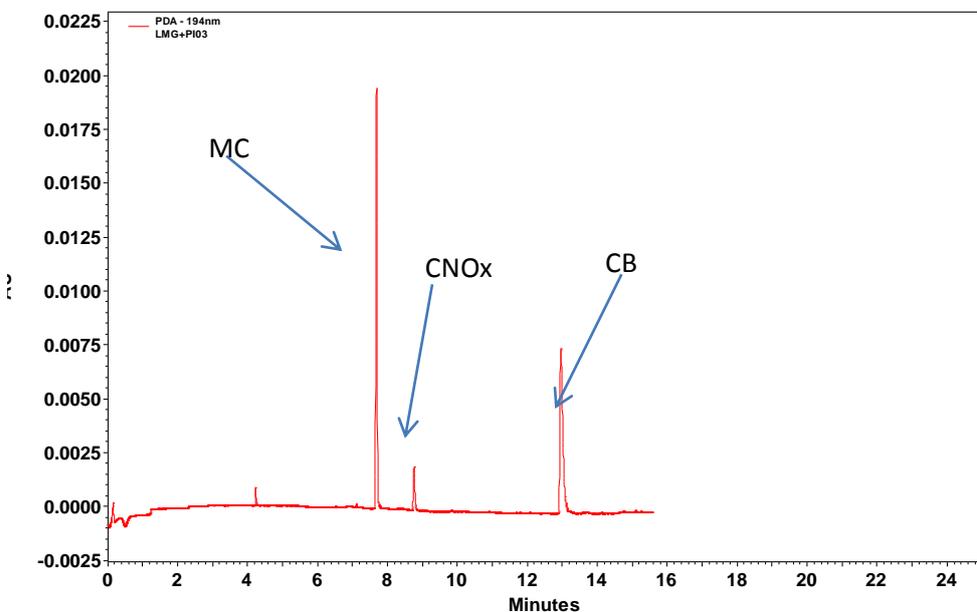


Figura 22.0 Electroferograma con la identificación de señales de LM6 y el estándar interno CB (clorhidrato de bromhexina).

Para este medicamento no se encontró la presencia de 4-AF, pero si se encontró la presencia de CNOx como uno de los productos de degradación, el estudio completo de dicho antigripal se encuentra en anexo K.

Producto comercial Contact Ultra (Tabletas)

Este producto es comercializado por la farmacéutica GlaxoSmithKline y contiene en su formulación P, MC y CF, por lo tanto se esperan como productos de degradación 4-AF, CNOx e isómeros.

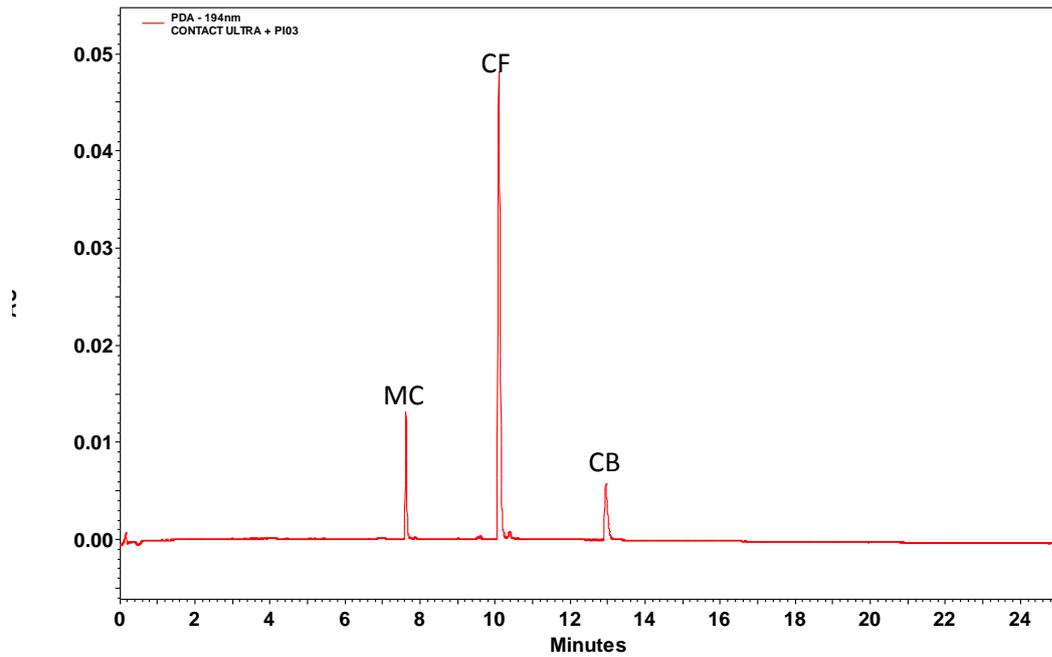


Figura 23.0 Electroferograma con la asignación de los principios activos de Contact Ultra se sometió dicho producto a estabilidad acelerada durante 1 mes y 20 días a 40°C/ 75%HR y el estándar interno CB.

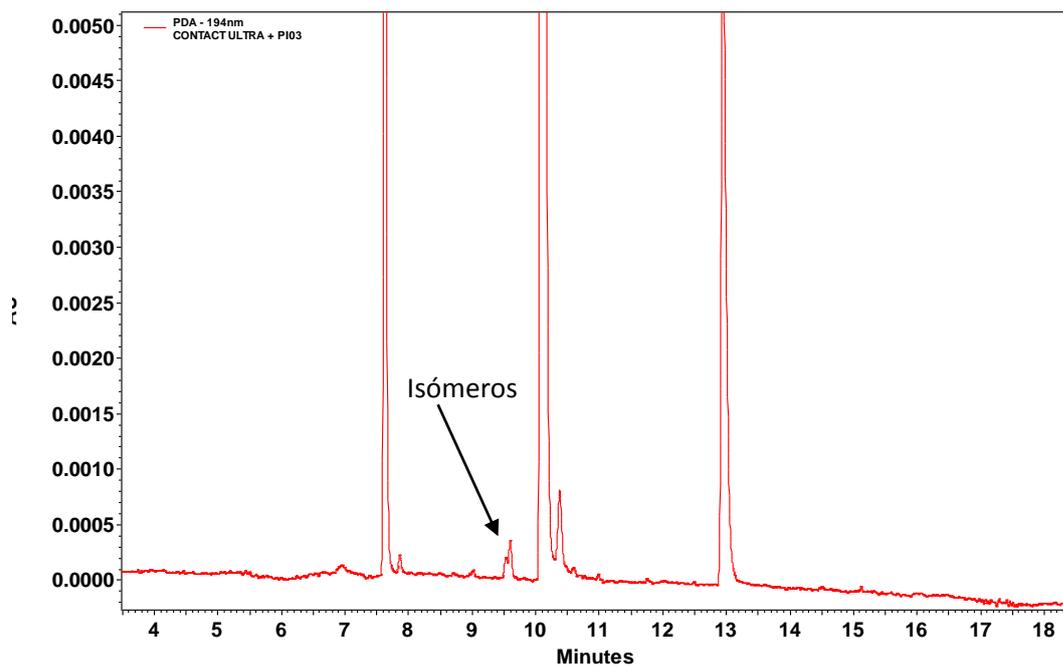


Figura 23.1 Electroferograma con la asignación de los productos de degradación en Contact Ultra (zoom de electroferograma anterior).

Una vez que se analizó la muestra sometida estabilidad se determinó la presencia de los isómeros TH-4,6 y TH-4,8 (ver anexo L).

Producto comercial VickPyrena (Granulado)

Este medicamento lo comercializa Procter & Gamble y se vende como granulado para su administración disuelto en agua. El producto contiene P y CF por lo tanto se espera encontrar como productos de degradación 4-AF e isómeros TH-4,6 y TH-4,8.

Se midió la muestra y se determinaron los productos de degradación obteniéndose el electroferograma de la figura 24.0:

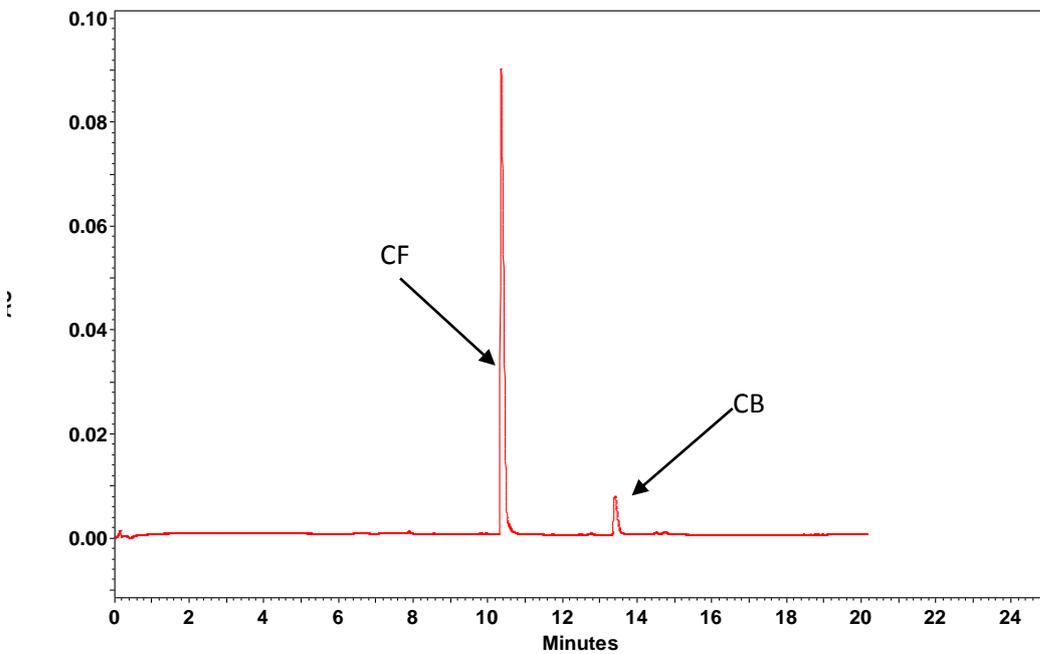


Figura 24.0 Asignación de señales de los principios activos de VickPyrena sometido a estabilidad durante 1 mes y 20 días a 40°C / 75% HR y del estándar interno.

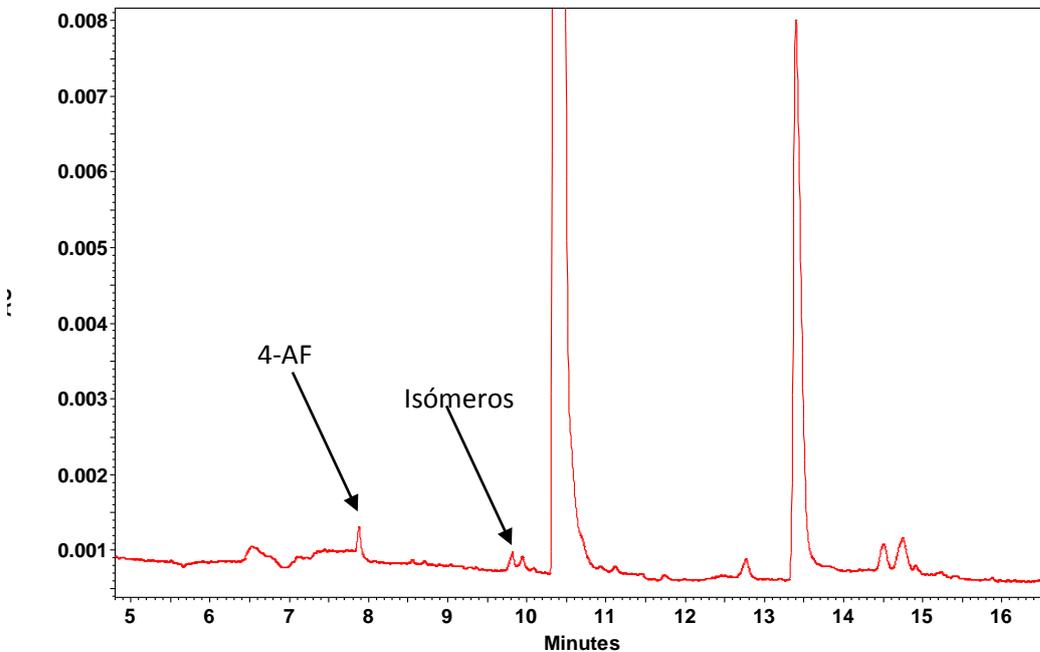


Figura 24.1 Asignación de señales de los productos de degradación del producto sometido a estabilidad VickPyrena.

De modo que para este producto sometido a estabilidad acelerada se tiene como productos de degradación presentes 4-AF e isómeros (ver anexo M).

Producto comercial TaylexFlu (Tabletas)

Producido por Janssen Cilag, esta formulación farmacéutica contiene P, MC, CF y BD, por lo tanto se espera encontrar en el medicamento sometido a estabilidad acelerada como productos de degradación 4-AF, CNOx, isómeros TH-4,6 y TH-4,8 y DeNOx, por lo cual se analizó dicha muestra y se obtuvieron los siguientes resultados:

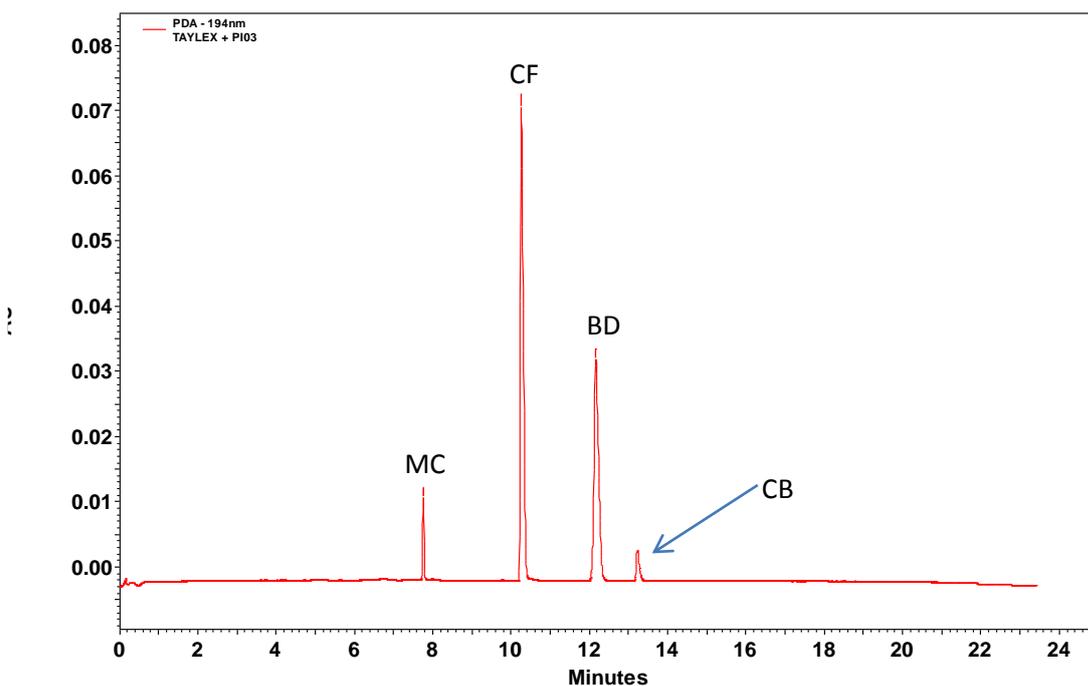


Figura 25.0 Electroferograma de Taylex Flu sometido a estabilidad acelerada durante 1 mes y 20 días a 40°C / 75%HR el patrón interno CB.

Se puede observar que a simple vista no hay presencia de una señal aparte de la de los principios activos y el patrón interno, por lo tanto se realizó un acercamiento a la línea base, para poder apreciar si se encontraban presentes señales pequeñas como se muestra a continuación:

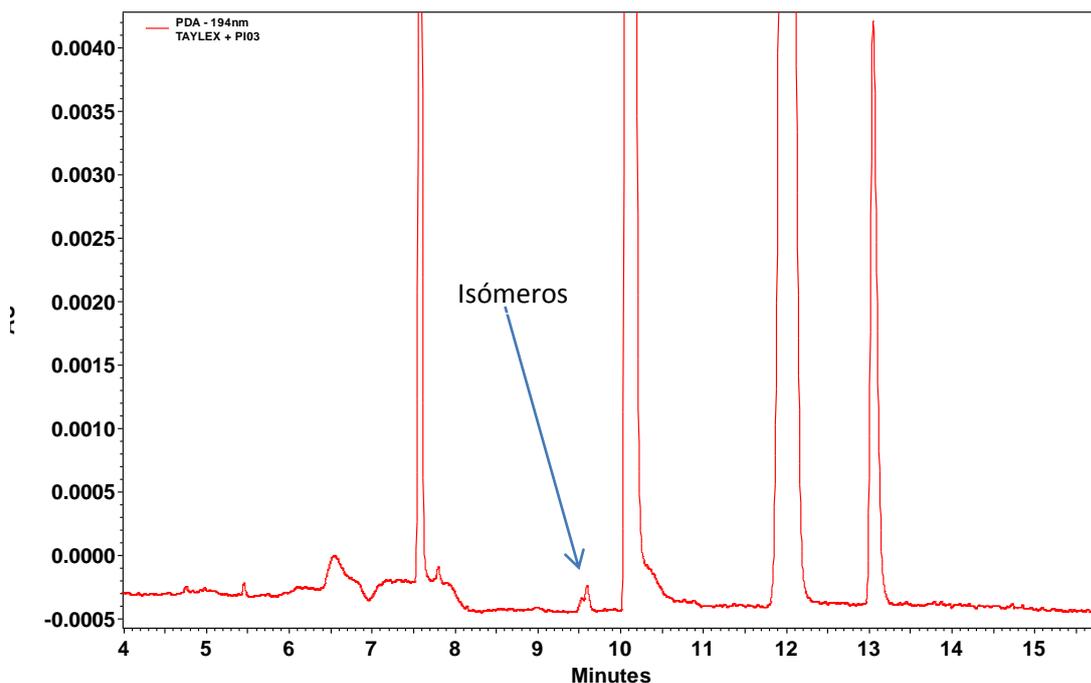


Figura 25.1 Zoom de electroferograma anterior con la designación de los productos de degradación formados.

Con el acercamiento a la línea base (figura 25.1), se puede apreciar la presencia de un producto de degradación, el cual se identificó como isómeros TH-4, 8 y TH-4,6, por otra parte no se observó la presencia de CNOx ni DeNOx como producto de degradación en la muestra sometida a estabilidad (para más detalles de la identificación ver anexo N).

Producto comercial Desenfriol D (Tabletas)

Las tabletas de este producto comercial las produce la farmacéutica Schering Ploughy contienen: P, CF y MC en su formulación, por lo tanto se pueden esperar que en el medicamento sometido a estabilidad acelerada pudiera contener productos de degradación como: 4-AF, CNOx e isómeros TH-4,6 y TH-4,8. Tras medir la muestra se obtuvo el siguiente electroferograma (figura 26):

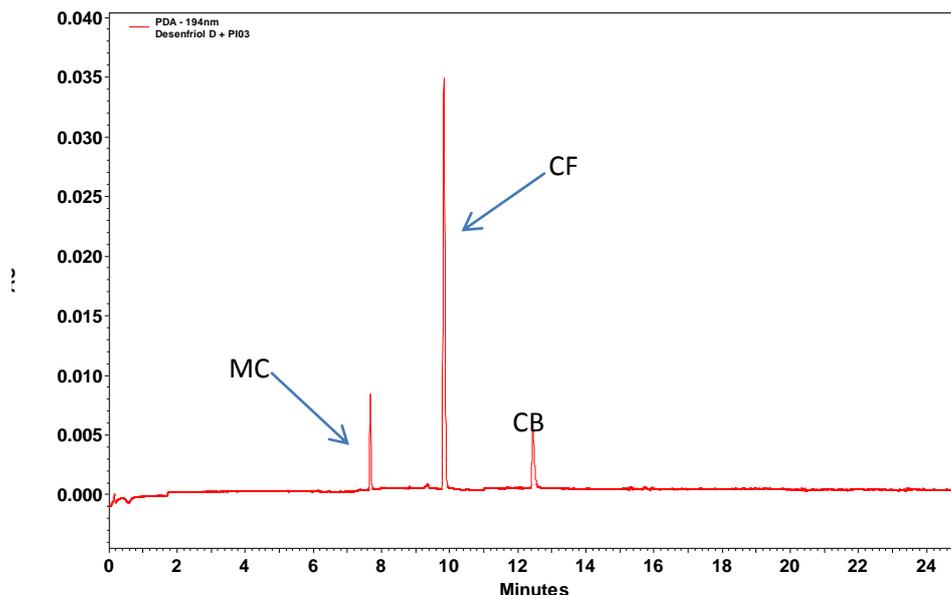


Figura 26.0 Electroferograma de Desenfriol D sometido a estabilidad 1 mes y 20 días meses a 40°C y 75% HR y el patrón interno CB.

Se puede observar que a simple vista no se encuentra la presencia de ningún pico adicional a las señales de los principios activos, al realizar un zoom al electroferograma anterior se obtuvo el siguiente resultado:

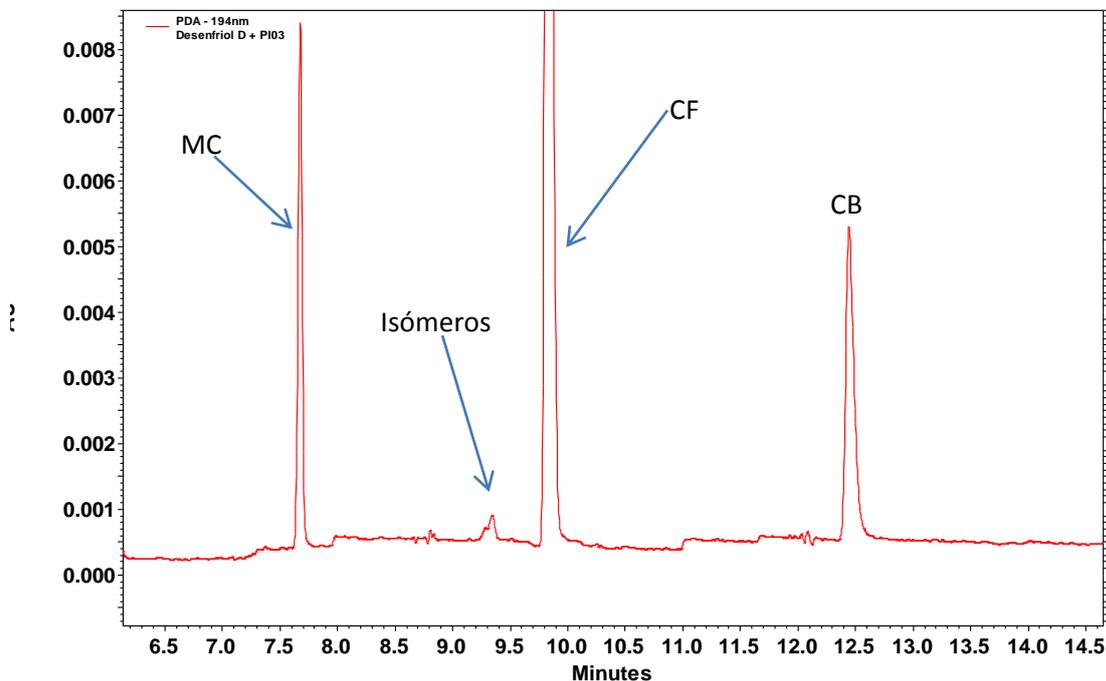


Figura 26.1 Zoom de electroferograma anterior

Al realizar el zoom (figura 26.1) se puede observar que si hay presencia de los isómeros como productos de degradación de este antigripal, el estudio completo del medicamento y la identificación de los productos de degradación se encuentran en anexo Ñ.

Resumen de productos de degradación encontrados en los antigripales sometidos a estabilidad.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la medición de los 16 productos comerciales (antigripales) utilizando el método indicativo de estabilidad y desarrollado durante esta tesis, se puede resumir los productos de degradación encontrados para cada caso en la tabla 9:

Tabla 9. Antigripales comerciales analizados y los productos de degradación encontrados.

Producto	CLAVE	Forma Farmacéutica	Empaque	Impureza
ALKA SELTZER PLUS EXPORTACIÓN (ASP) – BAYER				
Alka Seltzer Plus Severe Cold & Flu	ASP-SCF	Efervescente	FAP	Ninguno
Alka Seltzer Plus Non Drowsy	ASP-ND	Efervescente	FAP	Ninguno
Alka Seltzer Plus Cold & Cough	ASP-CC	Efervescente	FAP	Ninguno
Alka Seltzer Plus Cold Original	ASP-CO	Efervescente	FAP	Ninguno
Alka Seltzer Plus Night Cold	ASP-NC	Efervescente	FAP	Ninguno
Alka Seltzer Plus Cold Orange Zest	ASP-COZ	Efervescente	FAP	Ninguno
Alka Seltzer Plus Cold Cherry Burst	ASP-CCB	Efervescente	FAP	Ninguno
TABCIN EFERVESCENTE (T) – BAYER				
Tabcin gripe	TG	Efervescente	FAP	Ninguno
Tabcin gripe fuerte	TGF	Efervescente	FAP	Ninguno
Tabcin gripe naranja	TN	Efervescente	FAP	Ninguno
OTRAS MARCAS				
Contact Ultra (GlaxoSmithKline)	-	Tabletas	Aluminio sellado	TH-4,6 y TH-4,8
Desenfriol D (Schering Plough)	-	Tabletas	Blister	TH-4,6 y TH-4,8
Tylex Flu (Janssen Cilag)	-	Tabletas	Blister	TH-4,6 y TH-4,8
Vick Pyrena (Procter & Gamble)	-	Granulado	Sobre de aluminio	4-AF, TH-4,6 y TH-4,8
LM6 (Laboratorios Carnot)	-	Solución	Frasco de vidrio	CNOx
XL-3 Xtra Grippa y Tos (Progela)	-	Cápsulas	Blister	CNOx, DeNOx, TH-4,6 y TH-4,8

*FAP=Foil de aluminio plastificado

Como se muestra en la tabla anterior, se puede decir que los efervescentes son la formulación farmacéutica más estable, debido muy probablemente al alto control de la humedad durante su elaboración, así como por el envase especial a base de foil de

aluminio plastificado que mantiene al producto seco. Adicionalmente el alto contenido de sales y carbonatos que contiene en sus excipientes, pudieran tener un efecto buffer que estabiliza a los principios activos, suceso que ya ha sido reportado en la literatura, por lo que se sabe de su excelente estabilidad, sobrepasando particularmente las formas líquidas (Armin, 2009).

La degradación de un efervescente se puede llevar a cabo solo si se expone el empaque, ya que el empaque le proporciona su estabilidad y si este se ve comprometido, el efervescente también lo estará (Lee, 2012).

De forma general se puede resumir los resultados anteriores en la tabla 10:

Tabla 10. Resumen de los productos de degradación encontrados en las diferentes formulaciones farmacéuticas.

Formulación farmacéutica	Principios activos	Productos de degradación encontrados
Efervescentes	P, MC,BD,CF	Ninguno
Tabletas	P, MC,BD,CF	Isómeros
Capsulas	P, MC,BD,CF	CNO _x , DeNO _x , isómeros
Solución	P, MC	CNO _x
Granulado	P, CF	Isómeros y 4-AF

De acuerdo a los productos de degradación identificados en los productos antigripales antes mencionados, se realizó el cálculo del área bajo la curva de tanto los Principios Activos (PA) como de los Productos de Degradación (PD). Como se utilizó un Patrón interno (PI) en la determinación la respuesta que es proporcional a la concentración es la Relación de áreas (áreas de PA ó PD / PI). Con esta relación de áreas posteriormente se calculó el % del principio activo que se degrado, obteniendo así los resultados de la tabla 11.

Tabla 11. Porcentaje de productos de degradación calculados respecto a los principios activos de los cuales se originan para los antigripales comerciales.

Medicamento antigripal	Principio activo (PA)	Relación de áreas de PA / PI	Producto de degradación (PD) encontrado	Relación de áreas de PD / PI	% Degradado subtotal	Dentro del límite FEUM
Vick Pyrena	Fenilefrina	3.681	TH-4,6	0.0083	0.2255	Cumple
			TH-4,8	0.0061	0.1657	
			TOTAL		0.3912	
LM6	Clorfeniramina	0.730	CNOx	0.0685	9.3836	No cumple
			TOTAL		9.3836	
Taylex flu	Fenilefrina	3.681	TH-4,6	0.0067	0.1820	No cumple
			TH-4,8	0.0141	0.3830	
			TOTAL		0.5651	
XL-3 xtra	Fenilefrina	3.681	TH-4,6	0.0032	0.0869	Cumple
			TH-4,8	0.0048	0.1304	
	Clorfeniramina	0.730	CNOx	0.0034	0.4656	Cumple
TOTAL				0.6829		
Desenfriol D	Fenilefrina	3.681	TH-4,6	0.0119	0.6829	No cumple
			TH-4,8	0.0301	0.3233	
			TOTAL		1.1410	
Contact Ultra	Fenilefrina	3.681	TH-4,6	0.0105	0.2852	No cumple
			TH-4,8	0.0200	0.5433	
			TOTAL		0.8286	

*En el caso de ASP no se encontraron productos de degradación, por lo que no se incluye en esta tabla.

Como se puede observar en la tabla 10, 10 de los 16 medicamentos antigripales estudiados estos son muy estables (7 productos ASP y 3 Tabcin) y los otros 6 mostrados en la tabla presentaron principalmente productos de degradación de la fenilefrina, siendo estos la formación de los isómeros (TH-4,6 y TH-4,8) y productos de degradación de la clorfeniramina (clorfeniramina N-oxidado). En ninguno de los casos su porcentaje de relación de áreas del producto de degradación rebaso el 1.141% respecto al área total del principio activo que le dio origen, por lo que se consideran porcentajes bajos. La NOM-073-SSA1-1993 acepta disminuciones de hasta 5% en el contenido del principio activo por lo tanto se convierte en producto de degradación.

En la farmacopea mexicana se menciona que para los productos de degradación del maleato de clorfeniramina no deben rebasar el 0.5 % y para los productos de degradación de fenilefrina tampoco debe rebasar el 0.5% por lo que los productos LM6 rebasa el porcentaje de productos de degradación de clorfeniramina (9.38%) y Desenfriol D también rebasa el porcentaje de productos de degradación pero en este

caso de fenilefrina (1.14%). En el producto LM6 es comprensible debido a que el producto estudiado estuvo almacenado al menos 9 años después de su fecha de caducidad (Julio de 2007).

En el caso del Desenfriol D cuyo producto comercial se compró nuevo y fue sometido a estabilidad en las instalaciones de FES Cuautitlán se puede decir que es un producto poco estable comparado con el resto ya que genero un alto porcentaje de isómeros.

Cabe destacar que el producto Vick pyrena presento 4-AF como un producto de degradación, pero a este producto no fue posible determinarle el porcentaje de degradación debido a que con el método desarrollado no es aplicable para el análisis de paracetamol, y de este principio activo se deriva dicho producto.

De acuerdo a la FEUM se sabe que los valores permitidos para las impurezas de clrfeniramina y fenilefrina presentes no deben pasar del 0.5% por lo que para los productos de degradación que se formaron en vick pyrena y XL-3 xtra, están dentro del rango establecido. Para LM6, taylex flu, desenfriol D y contact ultra, estos rebasan el límite establecido.

9. CONCLUSIONES

Se logró desarrollar exitosamente un método indicativo de estabilidad para 16 medicamentos antigripales comerciales: 7 presentaciones de Alka-Seltzer Plus de exportación, 3 Tabcin, 3 tabletas (Contact ultra, Desenfriol D, TylexFlu), un granulado VickPyrena y 2 encapsulados LM6 y XL3-Xtra gripa y tos. Dicho método permitió la identificación de los productos de degradación así como los principios activos en las distintas presentaciones farmacéuticas de éstos.

Con este método se logró llevar a cabo la separación de 4 principios activos, 5 productos de degradación y un estándar interno simultáneamente en menos de 14 minutos utilizando la técnica de electroforesis capilar.

De los 16 medicamentos antigripales estudiados, 10 de estos son muy estables (7 productos ASP y 3 Tabcin) y los otros 6 presentaron productos de degradación de fenilefrina (TH-4,6 y TH-4,8) y de clorfeniramina (clorfeniramina N-oxidado).

Los productos comerciales vick pyrena, LM6, Taylex flu, desenfriol D y conact ultra no cumplen con lo establecido en FEUM.

El medicamento antigripal que presento más productos de degradación fueron las cápsulas, seguido del granulado. En el caso de las tabletas y la solución presentaron un producto de degradación (isómeros y CNOx respectivamente), mientras que los efervescentes resultaron ser completamente estables (pues no presentaron productos de degradación) en condiciones de estabilidad acelerada. Esto puede deberse a que los efervescentes utilizan en su formulación una gran cantidad de sales, además de que presentan empaques herméticos, protegidos de la luz y con un riguroso control de la humedad.

Con respecto a la degradación forzada con peróxido de hidrogeno al 30% de alka seltzer plus severe cold & flu (ASP-SCF) se logró degradar los principios activos y de esta forma comprobar que estos se pueden formar en los efervescentes bajo estas condiciones extremas.

Comparando las técnicas de HPLC contra EC se concluye que la técnica de EC ofrece bajo gasto de disolventes y reactivos, además de tiempos de análisis comparables a los de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), esto es de gran importancia a nivel industrial debido a que EC le ofrece a la industria farmacéutica un método analítico confiable, eficaz y con un menor costo.

10. REFERENCIAS

- A. Sonoda, N. T. (1998). Complex formation between boric acid and triethanolamine in aqueous solutions. *Chem.Soc.Jpn*, 71, 161-166.
- Armin, H. G. (2009). Moisture Effects on Solid Dosage Forms-Formulation, Processing, and Stability. *Journal of GXP Compliance*, 13(1), 58-66.
- Benitez, C. L. (2004). *Desarrollo de un protocolo para estudios de estabilidad de medicamentos que considere la normatividad: nacional e internacional*. México: UNAM.
- BIÓLOGOS, C. N. (s.f.). *Guía de validación de métodos analíticos*.
- Calinescu, O. (2012). *Journal of Chromatographic Science*, 335-342.
- CANIFARMA. (2000). Recuperado el 19 de ENERO de 2016, de <http://www.canifarma.org.mx/datoseconomicos.html>
- Cano, M. P. (2002). *Manual de prácticas tuteladas en oficina de farmacia*. España: COMPLUTENSE.
- Castagnino, J. M. (2000). Electroforesis Capilar. *Bioquímica*, 25(1), 13-32.
- Castillo, R. M. (2005). *Fundamentos de electroforesis capilar*. México: UNAM.
- CFM. (2012). *Consejo Farmacéutico Mexicano*. Recuperado el 19 de Enero de 2016, de <http://www.cofarmex.org.mx/industria.html>
- Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos, Q. (2002). *Guía de validación de métodos analíticos*.
- Dousa, M. (2011). Drug-excipient compatibility testing—Identification and characterization of degradation products of phenylephrine in several pharmaceutical formulations against the common cold. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 949-956.
- EXCELSIOR. (21 de Octubre de 2013). Recuperado el 19 de Enero de 2016, de <http://www.dineroenimagen.com/2013-10-21/27735>
- FDA. (Agosto de 2016). *U.S. Food and Drug Administration*. Recuperado el 10 de Septiembre de 2015, de <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/BuyingUsingMedicineSafely/UnderstandingOver-the-CounterMedicines/UCM205964.pdf>
- Fonseca, G. L. (2004). *Cinética Química Aplicada: Procesos de descomposición de los fármacos*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Food and Drug Administration (FDA)*. (s.f.). Recuperado el 25 de 06 de 2015, de <http://www.fda.gov/>

- García, R. (2013). *Administración de alimentos y tratamientos a personas dependientes en el domicilio*. España: PARANINFO.
- González, G. G. (2005). *Medicamentos: salud, política y economía*. Buenos Aires: ISALUD.
- Harris, D. C. (2007). *Análisis químico cuantitativo* (3 ed.). Barcelona: REVERTÉ.
- Hill, W. J. (1999). *Química para el nuevo milenio* (8 ed.). México: PRENTICE HALL.
- Lee, E. R. (2012). *Amerilab Technologies*. Recuperado el 14 de Febrero de 2017, de <http://www.amerilabtech.com/wp-content/uploads/2012/01/EffervescentTabletsKeyFacts.pdf>
- Marín, A. C. (2004). LC/MS for the degradation profiling of cough–cold products under forced conditions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35, 1035-1045.
- Merck, & C. (2001). *The Index Merck*. New Jersey, USA.
- Morales, B. I. (s.f.). *Departamento de Facultad de Química*. Recuperado el 21 de Enero de 2016, de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Exposicion_electroforesis_5087.pdf
- NOM-073-SSA1-2005. (s.f.). *NORMA Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos*. Recuperado el 28 de 01 de 2015, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/073ssa105.html>
- Octavian Călinescu, I. A. (2012). HPLC Separation of Acetaminophen and its Impurities Using A Mixed-mode. *Journal of Chromatographic Science*, 50, 335-332.
- Osatinsky, R. (2007). ¿Que es la electroforesis capilar? *Bioquímica y patología clínica*, 71(2), 60-66.
- Pharmacists, T. A.-S. (Agosto de 2016). *MedlinePlus*. Recuperado el 28 de Enero de 2016, de <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/meds/a682543-es.html>
- Pires, P. C. (2012). Simultaneous determination of clobutinol hydrochloride and doxylamine succinate from syrups by RP HPLC using a new stationary phase containing embedded urea polar groups. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48, 315-323.
- Remington, G. A. (2003). *Remington Farmacia* (20 ed.). Madrid: PANAMERICANA.
- Ruiz, S. G. (2010). *Análisis instrumental* (Vol. 1). España: NETBIBLO.
- Sonawane, S. (2011). Optimization of Forced Degradation Using Experimental Design and Development of a Stability-Indicating Liquid Chromatographic Assay Method for Rebamipide in Bulk and Tablet Dosage Form. *Scientia Pharmaceutica*, 79, 85-96.
- Texas, D. d. (2009). *Departamento de Seguros de Texas*. Recuperado el 24 de Agosto de 2016, de <http://www.tdi.texas.gov/pubs/videoresourcessp/spfscommoncold.pdf>

11. ANEXOS

Anexo A. Preparación de soluciones de medición y cálculos realizados.

I. Concentración de solución buffer

Para la preparación de la solución buffer se colocaron 505 µL de ácido ortho-fosfórico en aproximadamente 40 mL de agua desionizada, a esta solución se le agregaron gotas de trietanolamina (entre 24-26 gotas) para ajustar a un pH de 3.1, posteriormente se llevó a un aforo de 50 mL con agua desionizada. A continuación se muestra el cálculo de la concentración de dicho buffer:

Se requiere una concentración de 150 mM de buffer de fosfatos con trietanolamina, para lo que se requieren 505.67 µL de ácido ortho-fosfórico:

$$50 \text{ mL} \times \frac{150 \text{ mmol H}_3\text{PO}_4}{\text{mL}} \times \frac{98 \text{ mg H}_3\text{PO}_4}{\text{mmol H}_3\text{PO}_4} \times \frac{100 \text{ mg R. A.}}{85 \text{ mg H}_3\text{PO}_4} \times \frac{1 \mu\text{L R. A.}}{1710 \text{ mg R. A.}}$$

$$= 505.67 \mu\text{L de R. A. de H}_3\text{PO}_4$$

Se colocan 505 µL de R. A. H₃PO₄ en 50 mL de agua, por lo tanto la concentración real del buffer de fosfatos con trietanolamina es:

$$505 \mu\text{L de RA H}_3\text{PO}_4 \times \frac{1710 \text{ mg RA H}_3\text{PO}_4}{1 \mu\text{L RA H}_3\text{PO}_4} \times \frac{85 \text{ mg H}_3\text{PO}_4}{100 \text{ mg RA H}_3\text{PO}_4} \times \frac{\text{mmol H}_3\text{PO}_4}{98 \text{ mg H}_3\text{PO}_4}$$

$$= 7489.9744 \text{ mmol H}_3\text{PO}_4$$

$$\frac{7489.9744 \text{ mmol H}_3\text{PO}_4}{50 \text{ mL de agua desionizada}}$$

$$= 149.7994 \text{ mM de H}_3\text{PO}_4 \text{ concentración real del buffer de fosfatos con trietanolamina a pH3.14}$$

I. Concentración de cada estándar por separado

Se prepararon las soluciones (STOCK) de acuerdo a las siguientes tablas:

Tabla 1-anexo A: Pesos y Concentraciones exactas de las soluciones STOCK utilizadas

PA			
	Peso (g)	V(mL)	*[mg/L]
MC	0.0101	1.6	6257.58
BD	0.0105	1.6	6533.63
SD	0.0105	1.6	6525.75
CF	0.0105	1.6	6539.53
BF	0.0113	1.6	7101.34
PD			
	Peso (g)	V(mL)	*[mg/L]
CNOx	0.0108	1.6	6095.25
DeNOx	0.0100	1.6	6131.25
DoNOx	0.0110	1.6	6551.88
4-AF	0.0104	1.6	6480.50
TH-4,6	0.0105	1.6	6542.81
TH-4,8	0.0108	1.6	6709.50

PI			
	Peso (g)	V(mL)	*[mg/L]
3-Aminofenol	0.0102	1.6	6247.50

*Para el cálculo de la concentración se tomó en cuenta la pureza correspondiente

A continuación se presentan los cálculos de cada una de las concentraciones paso a paso:

MC

Se pesaron en la balanza analítica 0.0101 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.1 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.13 \text{ mg de MC}}{100 \text{ mg RA}} = 6257.58 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de MC}$$

SD

Se pesaron en la balanza analítica 0.0105 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.5 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.44 \text{ mg de SD}}{100 \text{ mg RA}} = 6525.75 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de SD}$$

BD

Se pesaron en la balanza analítica 0.0105 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.5 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.56 \text{ mg de BD}}{100 \text{ mg RA}} = 6533.63 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de BD}$$

BF

Se pesaron en la balanza analítica 0.0113 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{11.3 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{100.55 \text{ mg de BF}}{100 \text{ mg RA}} = 7101.34 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de BF}$$

CF

Se pesaron en la balanza analítica 0.0105 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.5 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.65 \text{ mg de CF}}{100 \text{ mg RA}} = 6539.53 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de CF}$$

4-AF

Se pesaron en la balanza analítica 0.0104 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.4 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.7 \text{ mg de 4 - AF}}{100 \text{ mg RA}} = 6480.50 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de 4 - AF}$$

TH-4,6

Se pesaron en la balanza analítica 0.0105 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.5 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.7 \text{ mg de TH - 4,6}}{100 \text{ mg RA}} = 6542.81 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de TH - 4,6}$$

TH-4,8

Se pesaron en la balanza analítica 0.0108 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.8 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{99.4 \text{ mg de TH} - 4,8}{100 \text{ mg RA}} = 6709.50 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de TH} - 4,8$$

CNO_x

Se pesaron en la balanza analítica 0.0108 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.8 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{90.3 \text{ mg de CNO}_x}{100 \text{ mg RA}} = 6095.25 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de CNO}_x$$

DoxNO_x

Se pesaron en la balanza analítica 0.0110 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{11.0 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{95.3 \text{ mg de DoxNO}_x}{100 \text{ mg RA}} = 6551.88 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de DoxNO}_x$$

DexNO_x

Se pesaron en la balanza analítica 0.0100 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.0 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{98.1 \text{ mg de DexNO}_x}{100 \text{ mg RA}} = 6131.25 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de DexNO}_x$$

3-AF

Se pesaron en la balanza analítica 0.0102 g del sólido, los cuales se disolvieron en 1.6 mL de agua desionizada, tomando en cuenta los datos correspondientes se calculó su concentración de la siguiente manera:

$$\frac{10.2 \text{ mg RA}}{0.0016 \text{ L}} \times \frac{98 \text{ mg de 3 - AF}}{100 \text{ mg RA}} = 6247.00 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ de 3 - AF}$$

II. Concentración de dilución de cada uno de los estándares

A continuación se muestran los cálculos realizados de los estándares que se midieron por separado para obtener su tiempo de migración y su espectro de absorción.

Se tomaron 50 μL de la solución Stock con una micropipeta (escala 10- 50 μL) y se diluyeron en 1.5 mL de agua desionizada, por lo tanto la siguiente ecuación se tomó como base para calcular cada una de las concentraciones:

$$\text{Concentracion de dilucion} = \frac{(C_1)(V_1)}{V_2}$$

$$\text{Concentracion de dilucion} = \frac{(C_1)(0.05 \text{ mL})}{1.6 \text{ mL}}$$

Para todos los cálculos solo se cambió el valor de la concentración correspondiente a cada estándar, por lo que la concentración de cada uno de ellos se muestra en la Tabla 2-anexo.

Tabla 2-anexo A: Concentraciones de las Soluciones Stock Diluidas

Principios Activos (PA)	Stock (μL)	V(mL)	[mg/L]
MC	50	1.5	208.59
BD	50	1.5	217.79
SD	50	1.5	217.53
CF	50	1.5	217.98
Productos de Degradación (PD)	Stock (μL)	V(mL)	[mg/L]
CNO _x	50	1.5	203.18
DeNO _x	50	1.5	204.38
DoNO _x	50	1.5	218.40
4-AF	50	1.5	216.02
TH-4,6	50	1.5	218.09
TH-4,8	50	1.5	223.65
Patrón interno (PI)	Stock (μL)	V(mL)	[mg/L]
3-AF	50	1.5	208.25

III. Concentración de estándares en la mezcla modelo

Tomando en cuenta las concentraciones de cada estándar por separado (Anexo A, apartado II y Tabla 1-anexo A) y sabiendo que se tomaron 100 μL de cada uno de ellos para realizar la mezcla modelo y se llevaron a un volumen total de 1.5 mL, se calculan las concentraciones de estos en la mezcla modelo como se muestra a continuación:

$$\text{Concentracion de estandar en la muestra} = \frac{(C_1)(V_1)}{V_2}$$

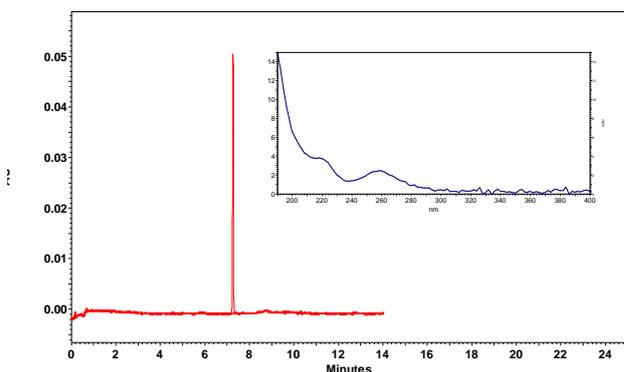
$$\text{Concentracion de estandar en la muestra} = \frac{(C_1)(0.1 \text{ mL})}{1.5 \text{ mL}}$$

Obteniéndose las siguientes concentraciones de cada uno de los analitos en la mezcla modelo (Tabla 3-anexo A):

Tabla 3-anexo A: Concentraciones de las soluciones en la mezcla modelo

Principios Activos (PA)	Stock (μL)	V(mL)	[mg/L]
MC	100	1.5	417.17
BD	100	1.5	435.58
SD	100	1.5	435.05
CF	100	1.5	435.97
BF	100	1.5	473.42
Productos de Degradación (PD)	Stock (μL)	V(mL)	[mg/L]
CNO _x	100	1.5	406.35
DeNO _x	100	1.5	408.75
DoNO _x	100	1.5	436.79
4-AF	100	1.5	432.03
TH-4,6	100	1.5	436.19
TH-4,8	100	1.5	447.30
Patrón interno (PI)	Stock (μL)	V(mL)	[mg/L]
3-AF	100	1.5	416.50

Anexo B. Espectros de absorción y electroferogramas de cada uno de los PA, PD y PI.



Tiempo de migración = 7.27 minutos.
Condiciones: capilar de sílice fundida de 42.1 cm de long. al detector (52.1 de long. total), 50 μm de diámetro interno, buffer de fosfatos 149 mM ajustado a pH 3.14 con trietanolamina, 25 kV, 25 $^{\circ}\text{C}$, detección a 190 nm.

FIGURA 1-anexo B. Electroferograma de MC como principio activo y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos.

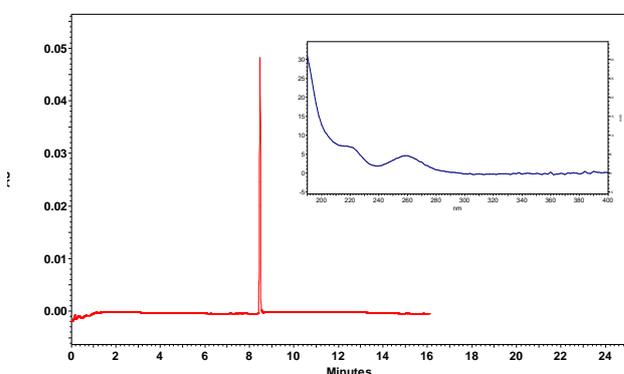


FIGURA 2-anexo B. Electroferograma del producto de degradación CNO_x y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración de CNO_x = 8.47 minutos. Condiciones: como en la Figura 1-anexo B.

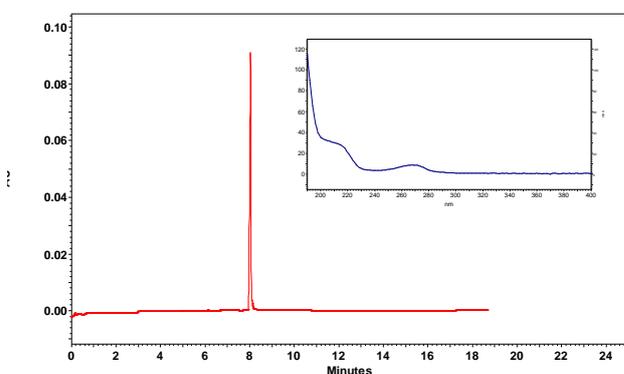


FIGURA 3-anexo B. Electroferograma de 3-AF como patrón interno y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración = 8.03 minutos. Condiciones: como en la Figura 1-anexo.

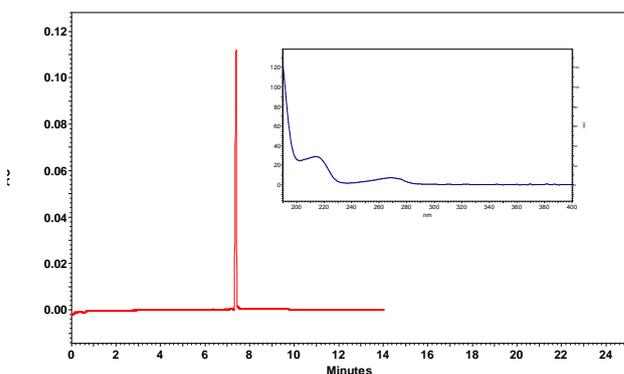


FIGURA 4-anexo B. Electroferograma de 4-AF como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración = 7.3 min. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

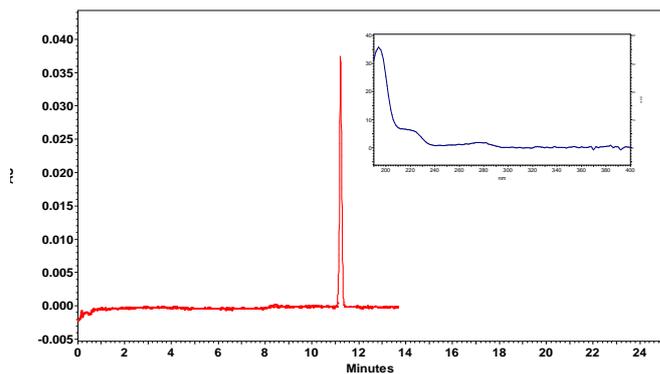


FIGURA 5-anexo B. Electroferograma de BD como principio activo y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración 11.2 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo

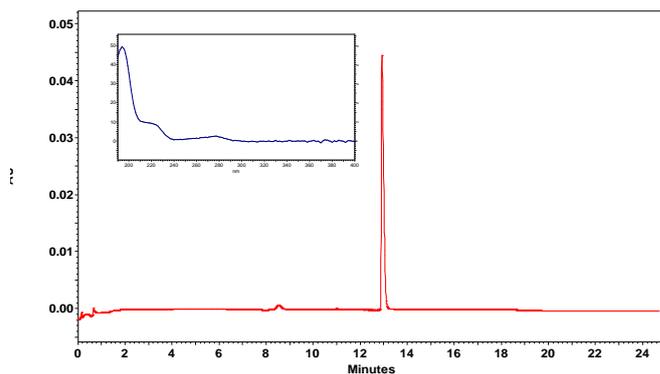


FIGURA 6-anexo B. Electroferograma de DexNOx como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración 13.08 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

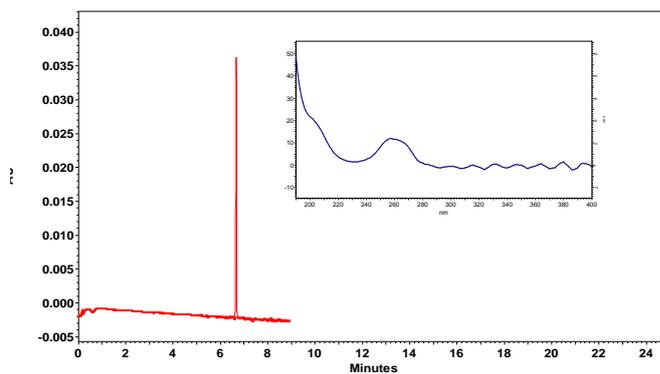


FIGURA 7-anexo B. Electroferograma de SD como principio activo y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración = 6.7 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

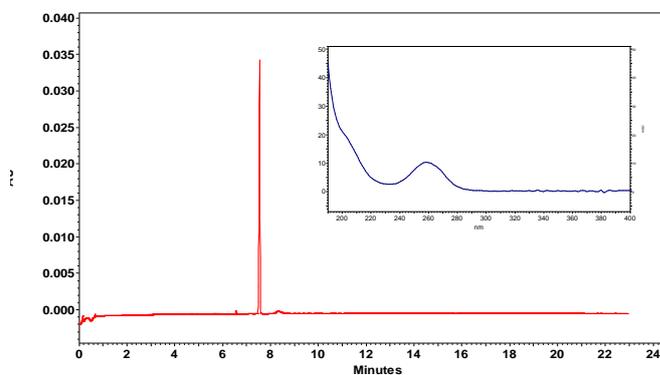


FIGURA 8-anexo B. Electroferograma de DoNOx como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración = 7.5 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

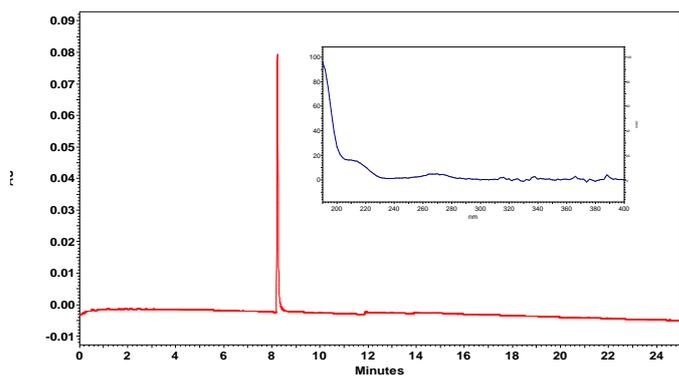


FIGURA 9-anexo B. Electroferograma de BF como principio activo y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración = 9.68 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo

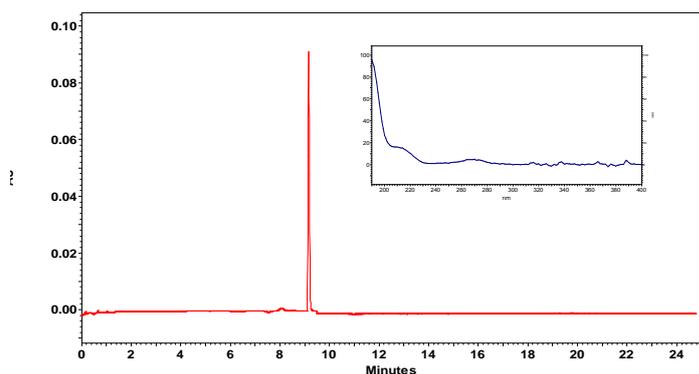


FIGURA 10-anexo B. Electroferograma de NF como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración= 8.22 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

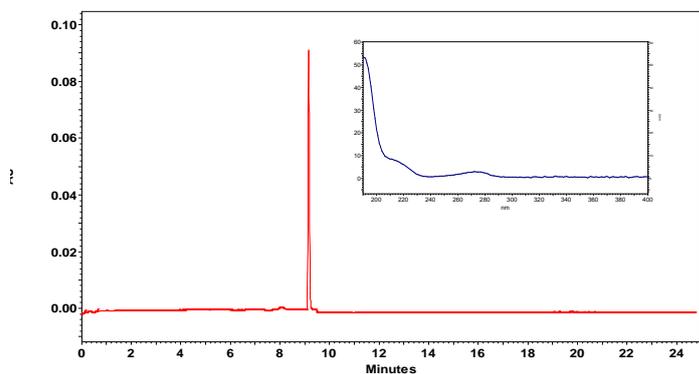


FIGURA 11-anexo B. Electroferograma de TH-4,8 como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración= 9.19 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo.

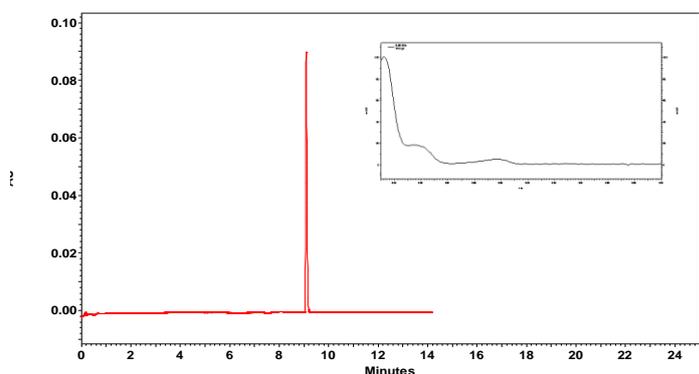


FIGURA 12-anexo B. Electroferograma de TH-4,6 como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración= 9.06 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

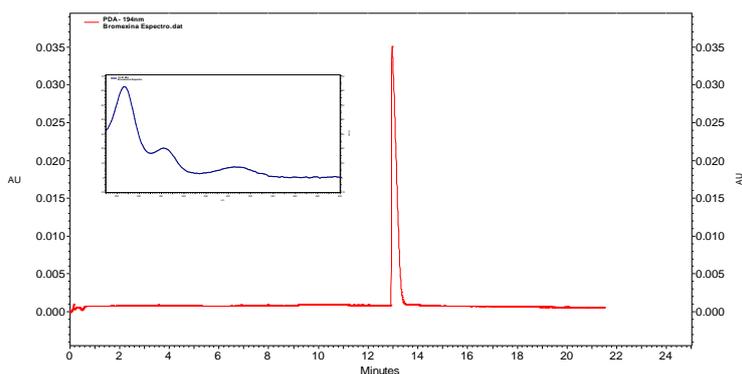


FIGURA 13-anexo B. Electroferograma de CB como producto de degradación y su espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos. Tiempo de migración= 13.22 minutos. Condiciones como en la Figura 1-anexo B.

Anexo C. Estudio de la mezcla modelo.

Se hizo uso de una mezcla modelo para saber el tiempo de migración en el cual se separaban tanto los principios activos como los productos de degradación, para llevar a cabo la identificación de cada pico, se procedió a agregar 20 µL de cada uno de los estándares por separado que se sospechaba que eran, para aumentar este pico y de esta forma saber a cuál correspondía.

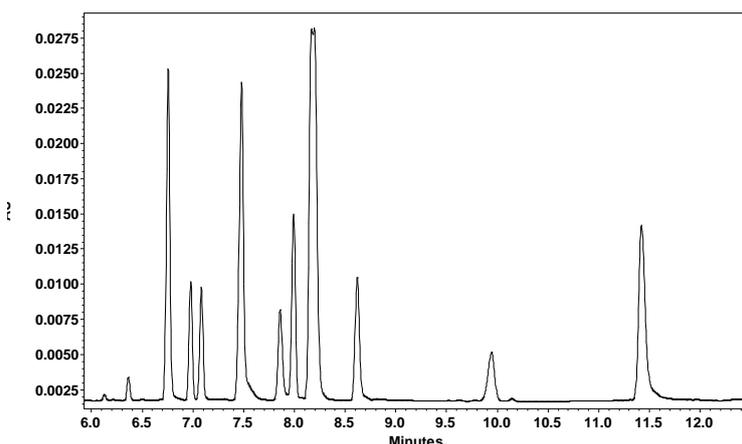


FIGURA 1-anexo C. Electroferograma de la mezcla modelo de 40 ppm de estándares.

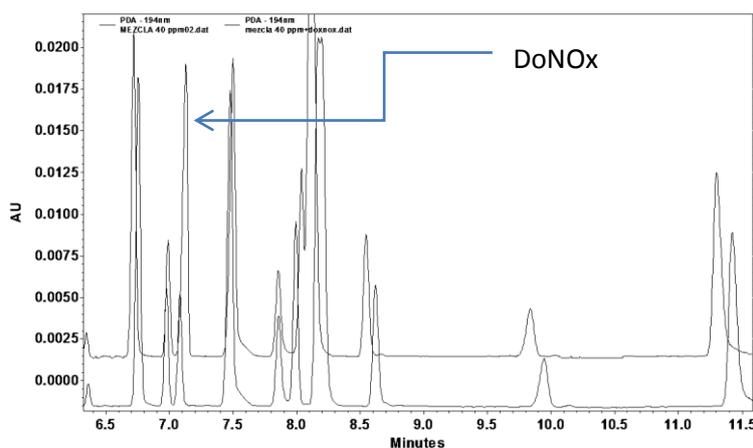


FIGURA 2-anexo C. Electroferograma de de la mezcla modelo de 40 ppm de estándares más 20 µL de estándar de DoNOx adicionados.

Se encuentra señalado el pico que aumentó al adicionarse el estándar de DoNOx, por lo tanto en la mezcla este pico corresponde a dicho componente (FIGURA 2- anexo C).

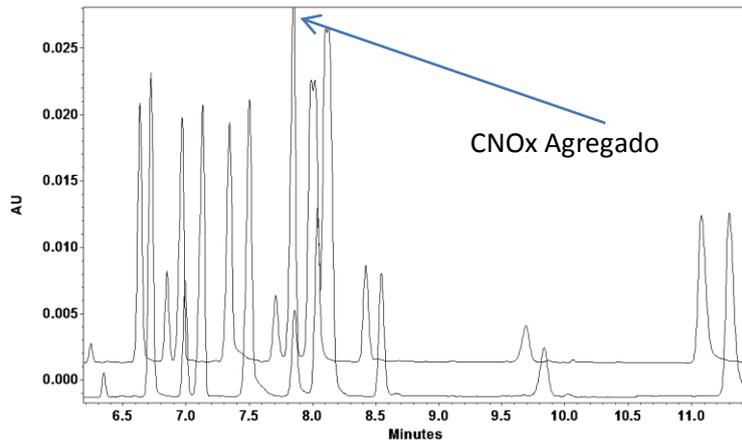


FIGURA 3-anexo C. Acercamiento de la línea base para determinar el crecimiento de la señal tras la adición de CNOx a la mezcla modelo.

En la figura anterior (FIGURA 3-anexo C) se muestra con una flecha cual es el pico correspondiente a la CNOx después de agregar dicho estándar.

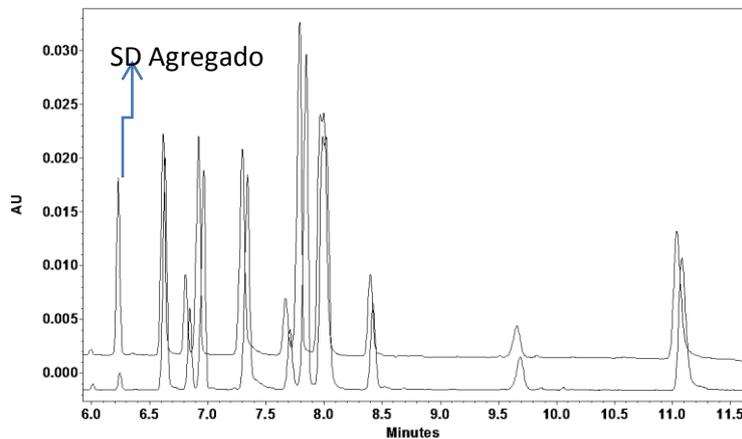


FIGURA 4-anexo C. Electroferogramas para determinar el crecimiento del pico tras la adición del estándar de PA (principio activo) a la mezcla modelo.

Se puede observar en la figura 18-anexo que el pico que creció fue el primero, por lo que esto nos indica que corresponde esta señal a succinato de doxilamina (SD).

Para la identificación de los demás picos, no fue necesaria una adición del estándar, ya que se pudo comprobar la presencia de estos en la mezcla de acuerdo al espectro de absorción.

Anexo D. Estudio de ASP-SCF

Para realizar la identificación de los productos de degradación de la muestra sometida a estabilidad se agregaron a esta solución 20 μL de cada estándar para hacer crecer los picos y de esta forma corroborar la presencia o ausencia del producto de degradación.

Identificación de CNOx

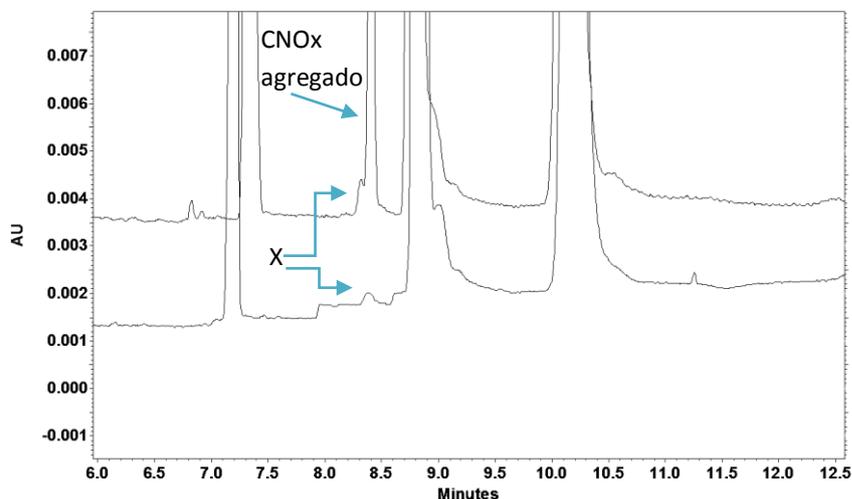


FIGURA 1-anexo D. Electroferograma del acercamiento de la línea base de ASP-SCF

En la figura 1-anexo D al agregar 20 μL de la solución estándar de CNOx y comparando ambos electroferogramas, se puede confundir a simple vista el crecimiento de uno de los picos, pero al realizar un acercamiento a la línea base, se observa que el pico pequeño sigue a un lado del pico adicionado (estas señales se designaron como X), de este modo sabemos que la CNOx no se encuentra como producto de degradación en dicha muestra.

Identificación de DeNOx

Tras la adición de CNOx a la muestra sometida a estabilidad, se adicionaron 20 μL del estándar de DeNOx para identificarlo.

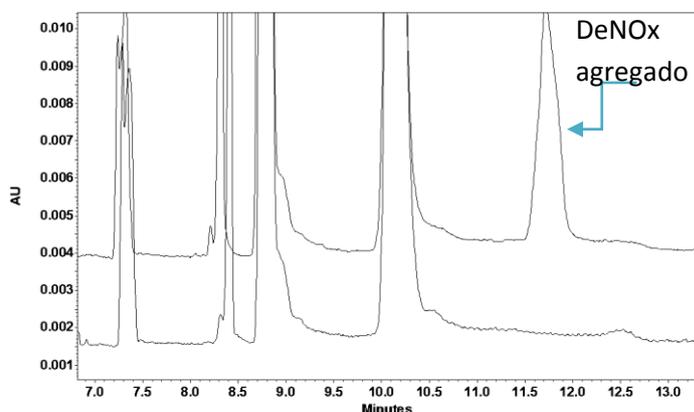


FIGURA 2-anexo D. Electroferograma de ASP-SCF sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR tras la adición de DeNOx.

Se observa que no hay ninguna señal en el producto sometido a estabilidad que pueda ser sospecha de la presencia de DeNOx en dicha muestra, por lo tanto este producto de degradación no se encuentra presente en la muestra.

Identificación de 4-AF

Se observa en la figura 3-anexo D, está saliendo un pico antes de la clorfeniramina (principio activo), lo cual quiere decir que este corresponde al 4-aminofenol, se puede observar que inicialmente tampoco se encontraba presente dicho producto de degradación.

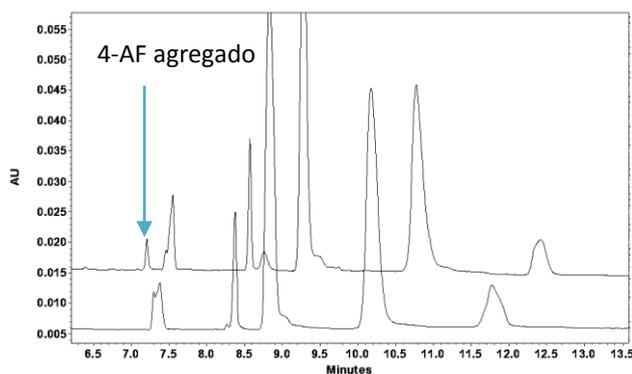


FIGURA 3-anexo D. Electroferograma para identificar la presencia de 4-AF en ASP-SCF sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR.

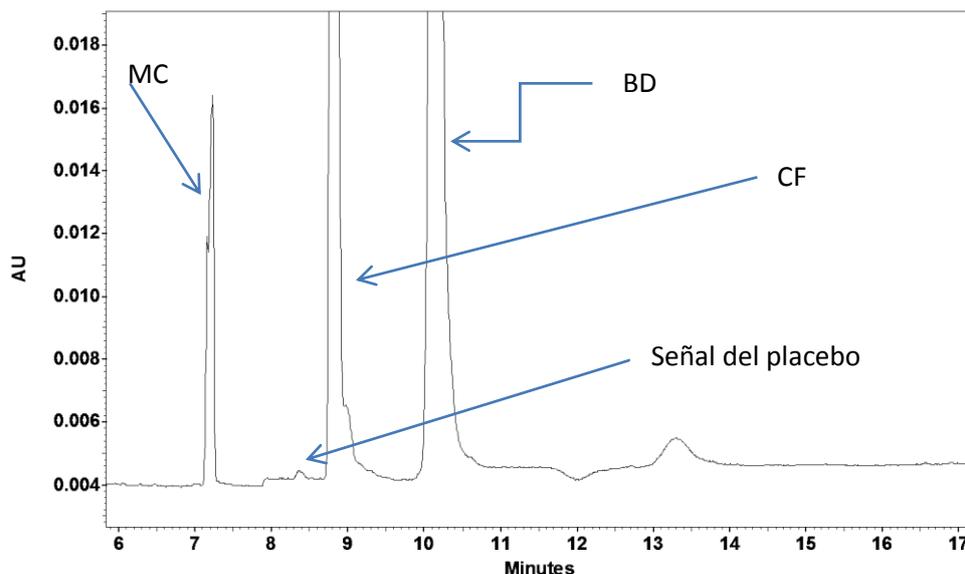


FIGURA 4-anexo D. Electroferograma con identificación de picos en ASP-SCF sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR.

Por lo tanto en la muestra no se encontró la presencia de ningún producto de degradación y la señal que se analizó corresponde a la señal del placebo.

Anexo E. Estudio de ASP-CC

Para determinar la presencia de productos de degradación presentes en el medicamento comercial ASP-CC sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR, se adicionaron 20 µL del estándar que se sospechaba podía estar presente.

Identificación de CNOx

Se agregó a la muestra el estándar interno y 20 µL de CNOx concentrado, obteniendo el siguiente electroferograma:

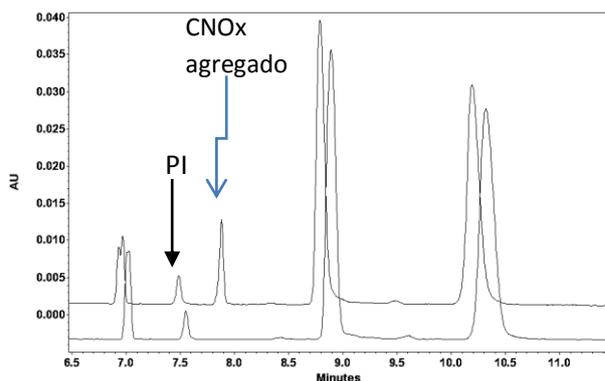


FIGURA 1-anexo E. Comparación de electroferogramas tras la adición de CNOx en la muestra ASP-CC sometida a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR.

Comparando los electroferogramas se puede observar que no hay presencia de CNOx en la muestra sometida a estabilidad.

Identificación de DeNOx

Tras agregar el estándar de CNOx, se agregaron 20 µL de estándar DeNOx a la muestra para determinar la presencia de este, obteniendo el siguiente electroferograma:

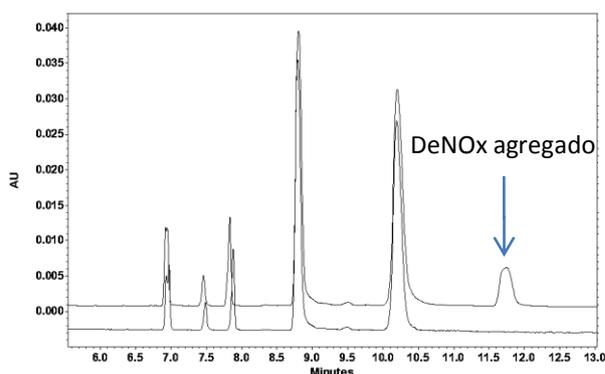


Figura 2-anexo E. Comparación de electroferogramas de ASP-CC sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR tras la adición de DeNOx.

En la figura 2-anexo E se puede observar que no hay presencia del producto de degradación DeNOx en la muestra sometida a estabilidad.

Identificación de isómeros

Para llevar a cabo la identificación de los isómeros en la muestra se adicionaron 20 µL de estos a la muestra sometida a estabilidad durante 36 meses, obteniendo así el siguiente electroferograma:

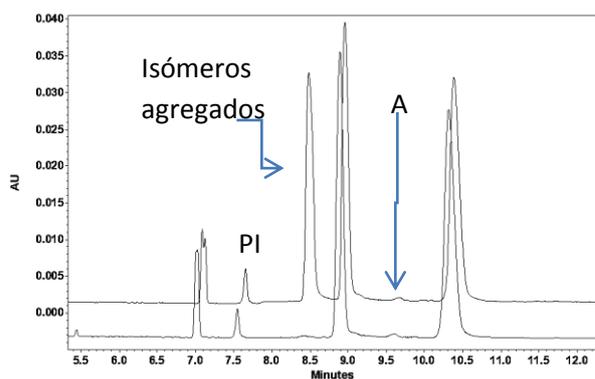


FIGURA 3-anexo E. Comparación de electroferogramas de ASP-CC-M36 tras la adición de los isómeros.

Debido a que no se encuentra ninguna señal adicional en el producto sometido a estabilidad por el fabricante a los 8.6 minutos aproximadamente que es donde se observa la señal de los isómeros agregados, se dice que no se encuentran dichos productos de degradación en la muestra sometida a estabilidad.

La señal designada como A que se observa en un tiempo de migración aproximado de 9.5 no se identificó con ninguno de los estándares de los productos de degradación conocidos por lo que probablemente sea originado por la degradación de un excipiente (colorante o saborizante) para ello se tendrán que realizar más pruebas en un futuro.

Anexo F. Estudio de ASP-COZ

Para realizar la identificación de los productos de degradación de la muestra sometida a estabilidad, se diluyó una tableta efervescente en agua desionizada, posteriormente se sónico durante 15 minutos, se filtró y se llevó al aforo de 20 mL con agua desionizada.

Identificación de CNOx

En la figura 1-anexo F al agregar 20 μ L de la solución estándar de CNOx y comparando ambos electroferogramas, se observa que el pico pequeño sigue a un lado del pico adicionado, de este modo sabemos que la CNOx no se encuentra como producto de degradación en dicha muestra.

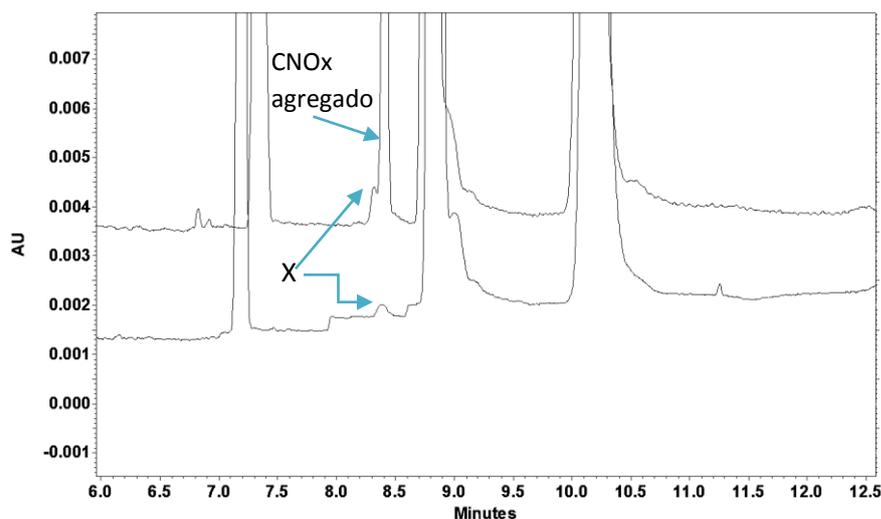


FIGURA 1-anexo F. Electroferogramas para la identificación de CNOx en ASP-COZ sometido a estabilidad acelerada 40° C 75% HR

Identificación de DeNOx

Tras la adición de CNOx a la muestra sometida a estabilidad, se adiciona ahora 20 μ L del estándar de DeNOx, observando de esta forma que no hay presencia de dicho producto de degradación en la muestra sometida a estabilidad acelerada (figura 2-anexo F).

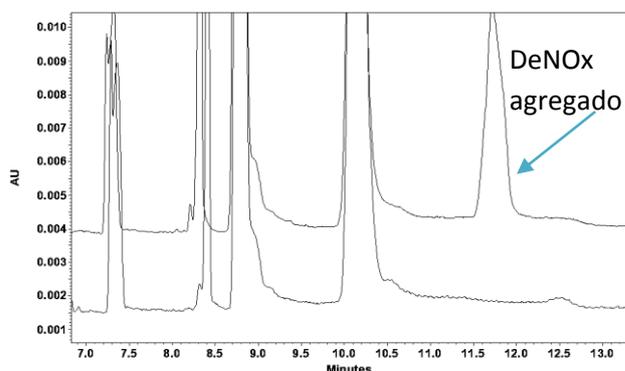


FIGURA 2-anexo F. Traslape de electroferogramas para la identificación de DeNOx en ASP-COZ sometido a estabilidad acelerada 40° C 75% HR

Identificación de 4-AF

En la figura 3-anexo F, está saliendo un pico antes de la clorfeniramina (principio activo), lo cual quiere decir que este corresponde al aminofenol, De acuerdo al electroferograma se puede observar que en la muestra no se encuentra la presencia de 4-AF.

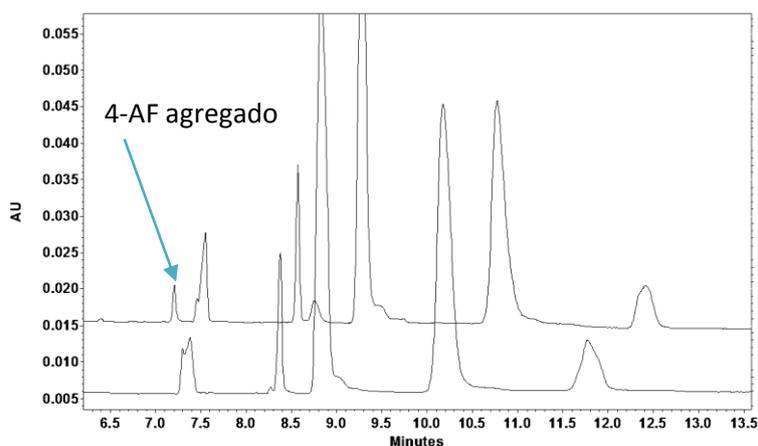


FIGURA 3-anexo F. Electroferogramas traslapados para la identificación de 4-aminofenol en la muestra

Por lo tanto en la muestra no se encuentra la presencia de ningún producto de degradación, para determinar si la señal A desconocida es debida a los isómeros o a la norfeilefrina, se realizó el siguiente análisis.

Para llevar a cabo la identificación de una de las señales en el producto ASP-COZ, se realizó una mezcla de los isómeros (TH-4,8 y TH-4,6) más norfenilefrina en un vial para ver a que concentración de buffer se separaban, se probó con una concentración de 172 mM, obteniendo el siguiente electroferograma:

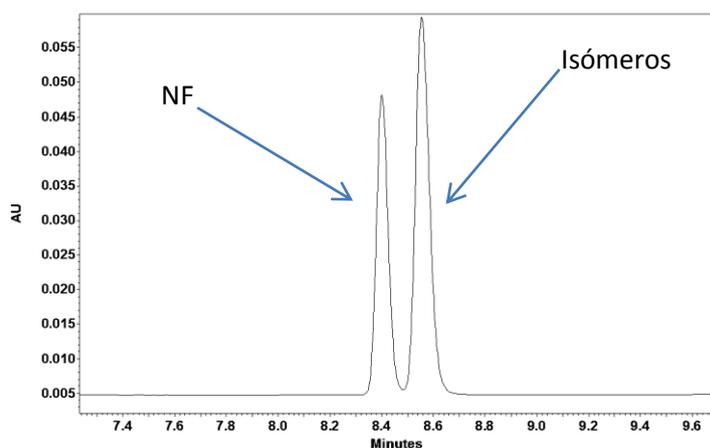


FIGURA 44-anexo. Electroferograma de la mezcla NF+ TH-4

Se puede observar que aunque siguen traslapadas las señales de los isómeros, estas ya se separan de la norfenilefrina, partiendo de esto se procedió a usar un buffer de fosfatos 172 mM, obteniendo el siguiente electroferograma:

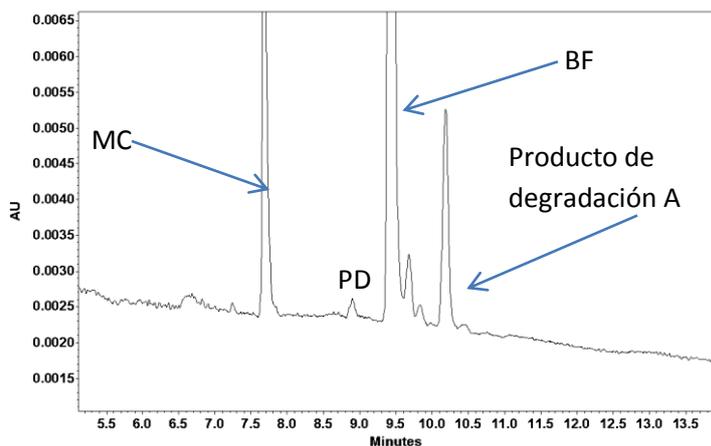


FIGURA 46-anexo.
Electroferograma de
ASP-COZ-M36

Para descartar la posibilidad de que el producto agregado sea norfenilefrina, se agregaron 5 μ L del estándar de norfenilefrina a la muestra ASP-COZ obteniendo el siguiente electroferograma:

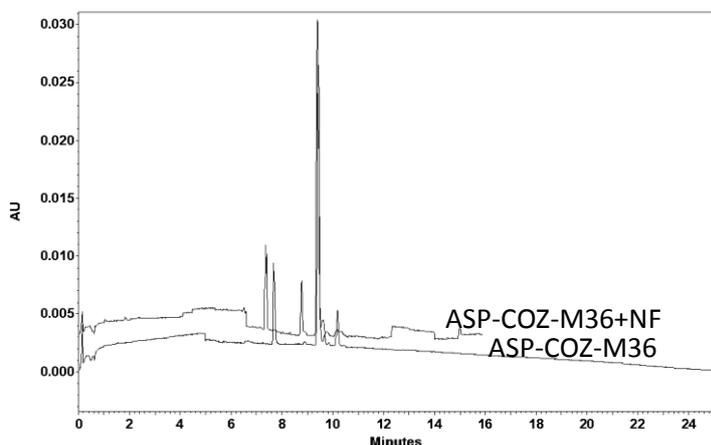


FIGURA 47-anexo.
Comparación de
electroferogramas
ASP-COZ-M36 con
ASP-COZ-M36 +NF

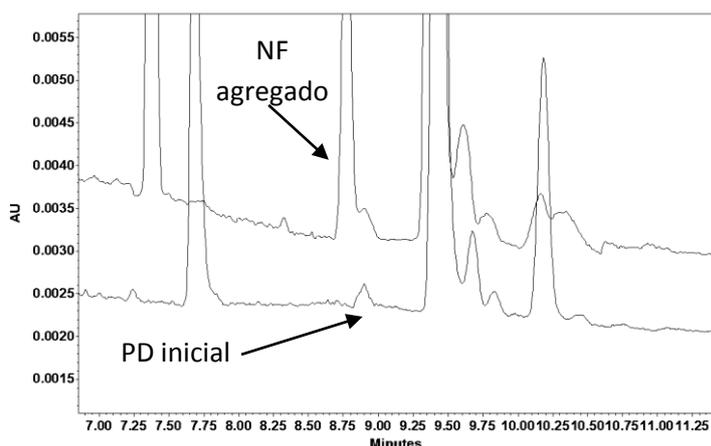


FIGURA 48-anexo.
Zoom del
electroferograma
anterior

Se puede observar que tras agregar el estándar de norfenilefrina sigue apareciendo el pico similar a un lado de esta, por lo tanto se descarta la presencia de norfenilefrina como producto de degradación.

Para saber si la señal de producto de degradación es TH-4,8, se agregaron 0.5 μ L del estándar a la muestra ASP-COZ, obteniendo el siguiente electroferograma:

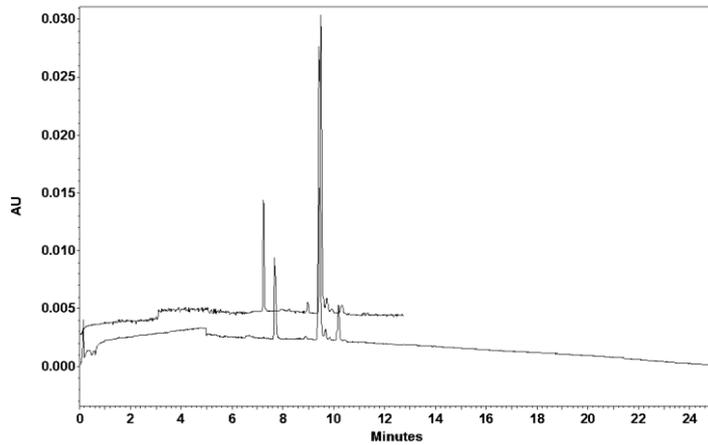


FIGURA 49-anexo. Electroferograma de ASP-COZ tras la adición de 0.5 μ L de estándar TH-4,8.

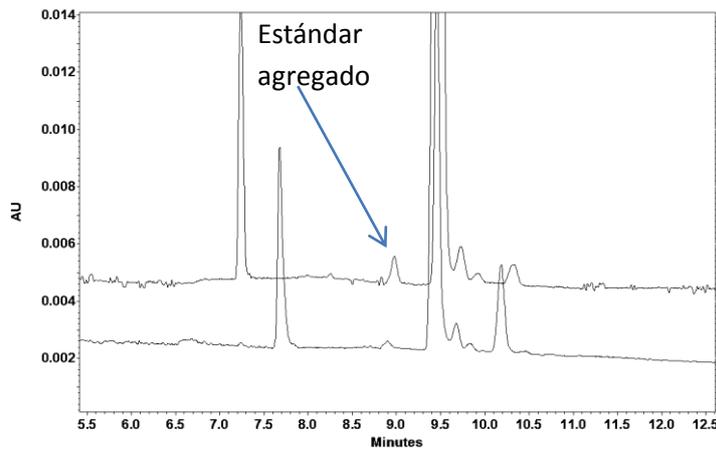


FIGURA 50-anexo. Zoom del electroferograma anterior

Posteriormente se adicionaron 0.5 μ L más a la muestra obteniendo el siguiente electroferograma:

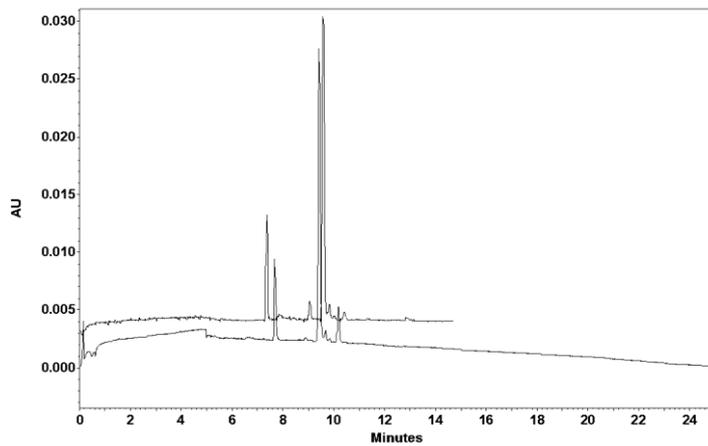


FIGURA 51-anexo. Electroferograma de ASP-COZ tras la adición de 0.5+0.5 μ L de estándar TH-4,8

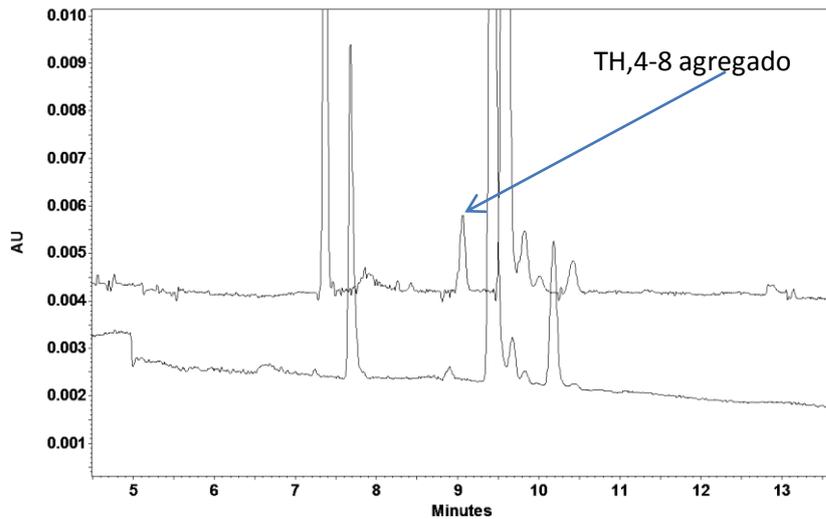


FIGURA 52-anexo. Zoom del electroferograma anterior

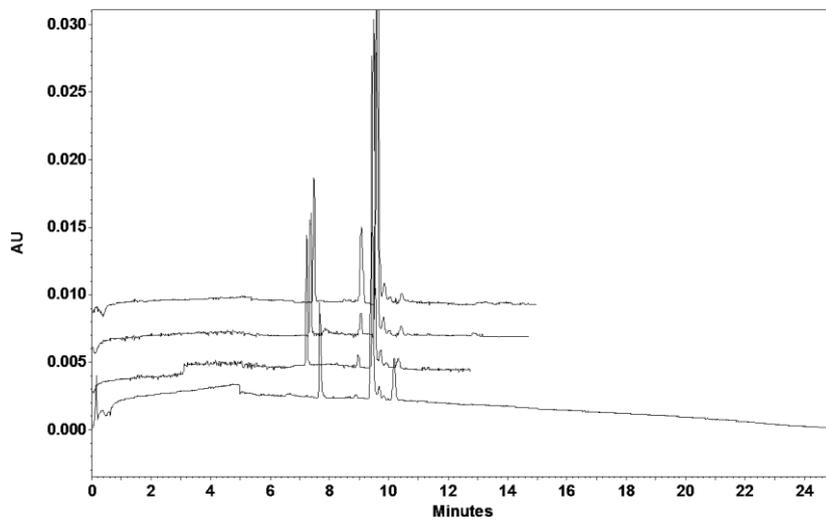


FIGURA 53-anexo. Comparación de electroferogramas de ASP-COZ-M36 tras la adición progresiva de estándar de TH-4,8

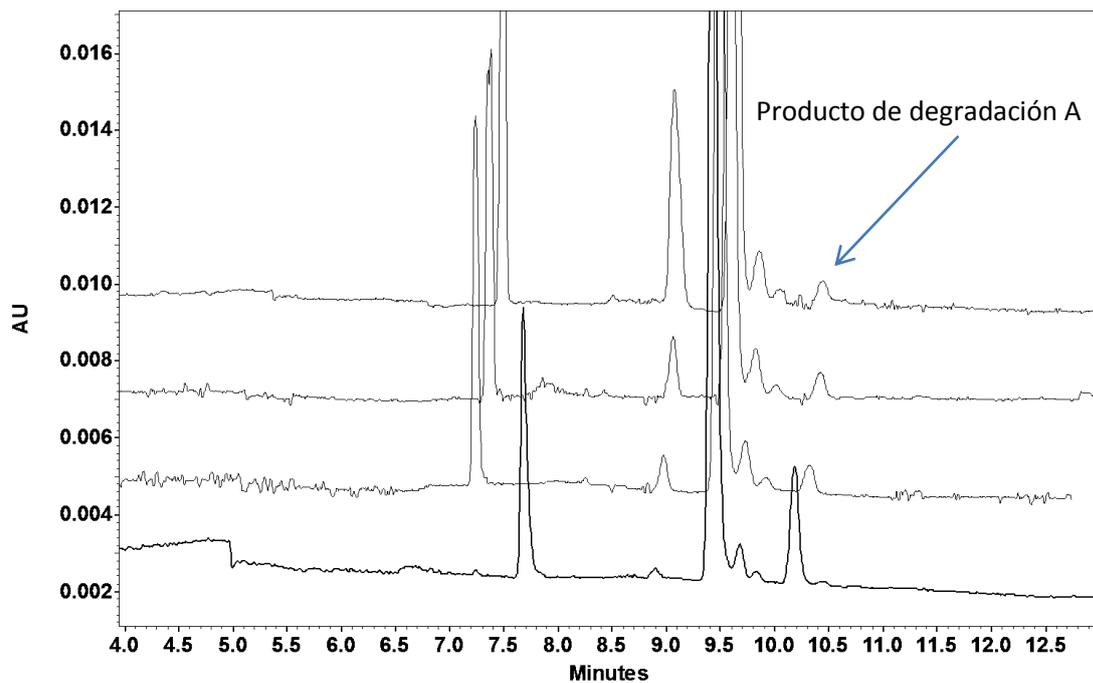


FIGURA 54-anexo. Zoom de electroferograma anterior

La señal denominada como Producto de degradación A, no corresponde a ninguno de los productos de degradación analizados, posiblemente es parte de la degradación de algún excipiente.

Se puede observar en el electroferograma donde se agregó TH-4,8 que el pico creció tras la adición, por lo tanto el producto de degradación que corresponde a esta señal es uno de los isómeros que se tienen.

Para corroborar que en realidad se trata de la señal de los isómeros, la muestra se volvió a medir con un buffer en el cual se sabe que los isómeros se separan en línea base, es decir, se usó un buffer de fosfatos pH=9.94, obteniendo los siguientes resultados:

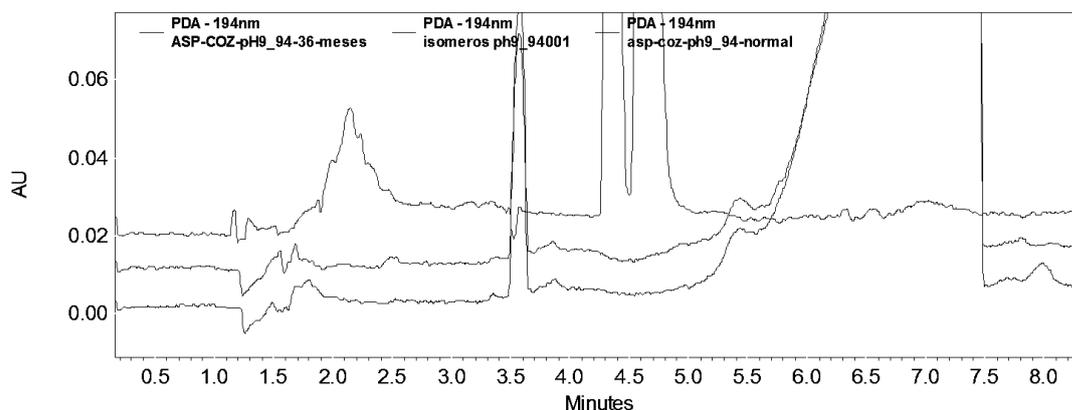


FIGURA 57-anexo. Estudio a pH 9.94 para saber si el producto ASP-COZ contiene isómeros donde: A: ASP-COZ producto comercial, B: ASP-COZ producto sometido a estabilidad durante 36 meses 45°C/ 75 % HR y C: Mezcla de isómeros.

De acuerdo al electroferograma anterior se puede observar que no hay presencia de isómeros, ya que al realizar la medición con el buffer de separación óptimo de estos, en los productos tanto en el comercial como el sometido a estabilidad no hay señal al tiempo de los isómeros, por lo tanto se asegura de esta forma que estos productos de degradación no se encuentran en esta muestra.

Una vez que se compararon los electroferogramas de ASP-COZ producto comercial, producto sometido a estabilidad por el fabricante y el placebo se corroboró que la señal nombrada como PD desconocido pertenece una señal del placebo.

Anexo G. Estudio de ASP-NC

Para corroborar que el producto comercial ASP-NC (alka seltzer plus night cold) no contiene ningún producto de degradación tras estar sometido a estabilidad acelerada a 40° C y 75% HR durante 36 meses se realizó el siguiente estudio de la muestra.

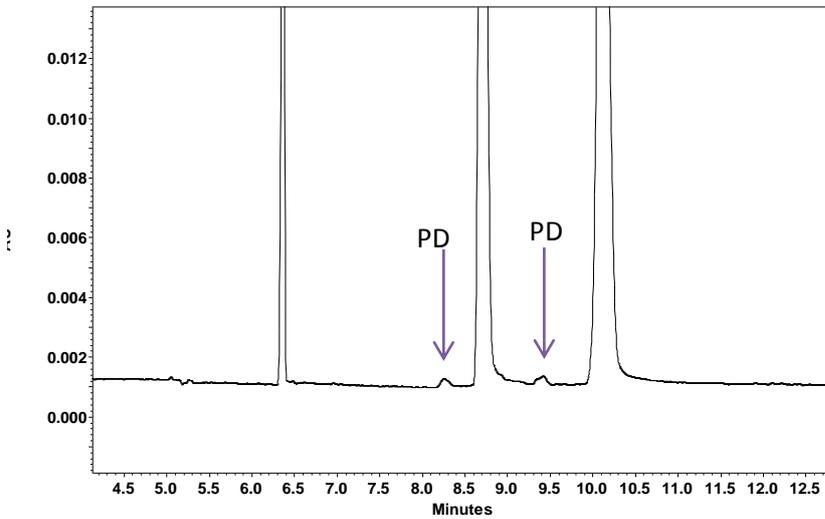


FIGURA 1-anexo G. Electroferograma de ASP-NC sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40° C / 75% HR.

Se puede apreciar que hay dos señales, una a los 8.5 minutos y otra a los 9.5 minutos, posteriormente se adicionaron los estándares conocidos para determinar si la presencia de algún producto de degradación correspondía a dichas señales.

S adicione el estándar de producto de degradación DeNOx con lo que se observa que a los 11.6 minutos el producto sometido a estabilidad acelerada no tiene presencia de dicho producto de degradación (figura 2–anexo G).

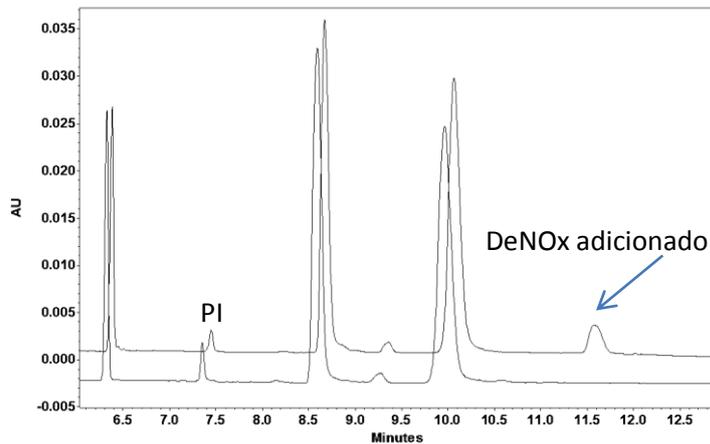


FIGURA 2-anexo G. Electroferograma para determinar la presencia de DeNOx en la muestra ASP-NC sometida a estabilidad acelerada.

Para descartar la presencia del producto de degradación DoNOx, se agregaron 20 µL del estándar obteniendo el siguiente electroferograma:

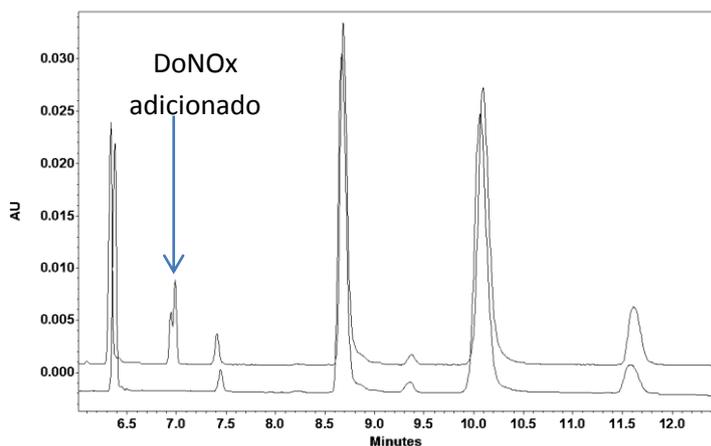


FIGURA 3-anexo G. Electroferograma para determinar la presencia de Do NOx en la muestra ASP-NC sometida a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C / 75% HR.

En la figura 3-anexo G se puede observar que en el producto sometido a estabilidad acelerada no se encuentra presente el producto de degradación DoNOx.

Una vez que se corroboró que no hay presencia de ninguno de los productos de degradación se comparó el electroferograma con el placebo, obteniendo que la señal que aparece a los 8.5 minutos corresponde a una señal presente en él y la señal de los 9.5 minutos, puede ser debida posiblemente a la degradación de algún excipiente (saborizante) y que no se encuentra en los productos de degradación conocidos.

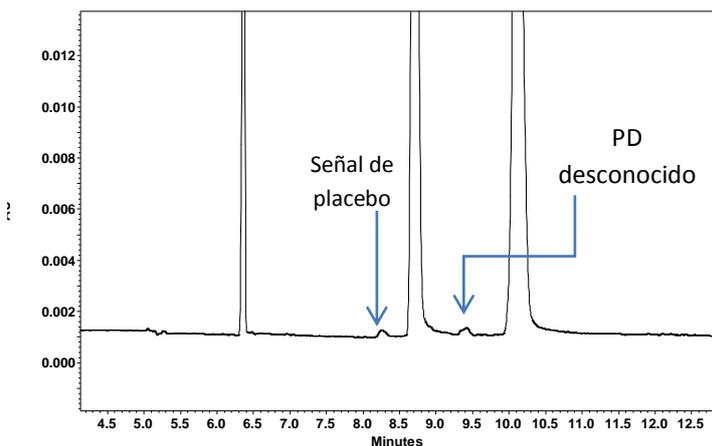


FIGURA 67-anexo. Acercamiento de la línea base del electroferograma de ASP-NC m36 40°C/ 75% HR.

Con esto se concluye que el producto ASP-NC M36 no contiene ningún producto de degradación de los principios activos.

Anexo H. Estudio de ASP-ND

El producto sometido a estabilidad durante 36 meses a 40° C y 75% HR, se analizó dando como resultado el siguiente electroferograma:

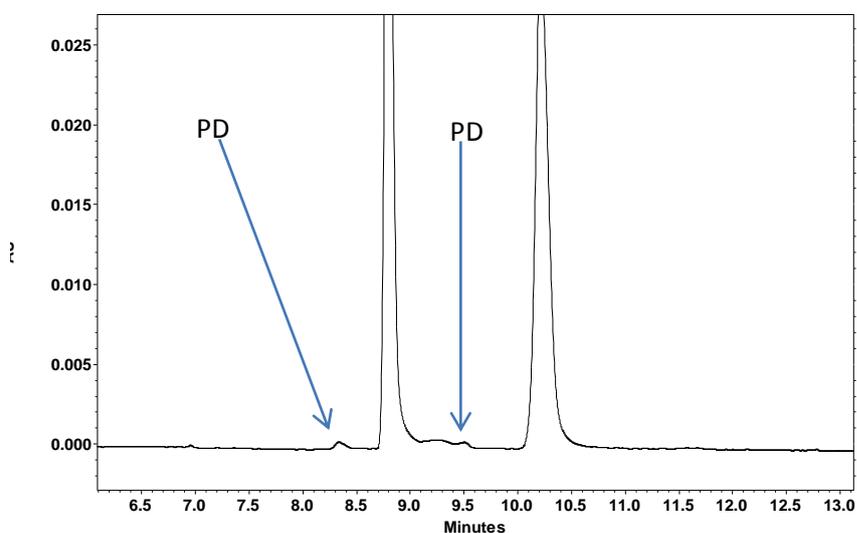


FIGURA 1-anexo H. Acercamiento del electroferograma de ASP-ND M36 a 40° C y 75 % HR.

En la figura anterior (figura 1-anexo H) se puede observar la presencia de dos señales adicionales a las de los principios activos, para corroborar la presencia de algún principio de degradación se procedió a hacer la adición de los posibles productos de degradación, posteriormente se analizan cada uno de ellos, para lo cual se adicionó el patrón interno (PI). Una vez adicionado el patrón interno, se adicionaron 20µL de cada uno de los productos de degradación TH-4,6 y TH-4,8, obteniendo como resultado:

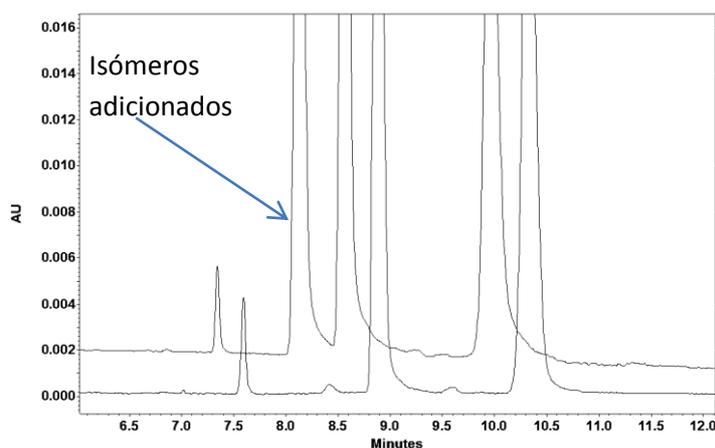


FIGURA 2-anexo H. Comparación de electroferogramas de ASP-ND sometido a estabilidad durante 36 meses (M36) a 40° C y 75 % HR con ASP-ND tras la adición de la mezcla de los isómeros.

Se puede observar que tras la adición de los isómeros la señal a los 8.5 minutos está siendo traslapada por la señal de los isómeros, pero (más adelante) al comparar el producto ASP-ND sometido a estabilidad durante 36 meses a 40° C y 75 % HR con el placebo, se aprecia que dicha señal pertenece al placebo y no a los isómeros.

Para identificar el producto de degradación DeNOx, este se adiciona a la muestra sometida a estabilidad, observándose así que no hay presencia de dicho producto de degradación (figura 3-anexo H).

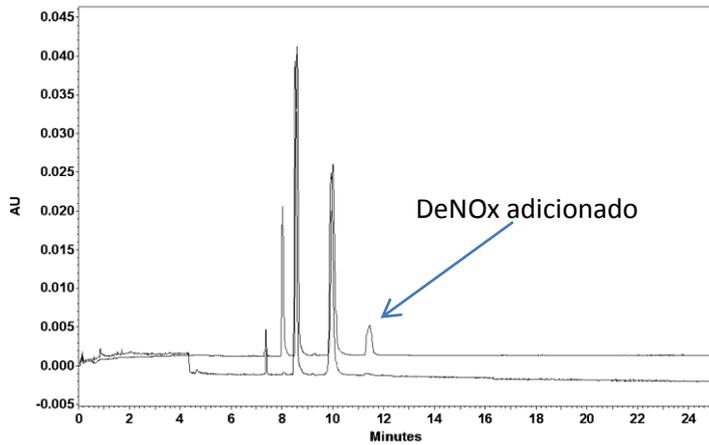


FIGURA 3-anexo H. Comparación de electroferograma ASP-ND-M36 tras la adición de DeNOx.

Por último se realizó la comparación del producto sometido a estabilidad por el fabricante y el placebo observándose (figura 4-anexo H) que la señal adicional en el producto sometido a estabilidad corresponde a la señal del placebo (tm de 8.5).

FIGURA 4-anexo H. Comparación de los electroferogramas del placebo todos (PTD) con el electroferograma de ASP-ND M36 a 40° C y 75 % HR.

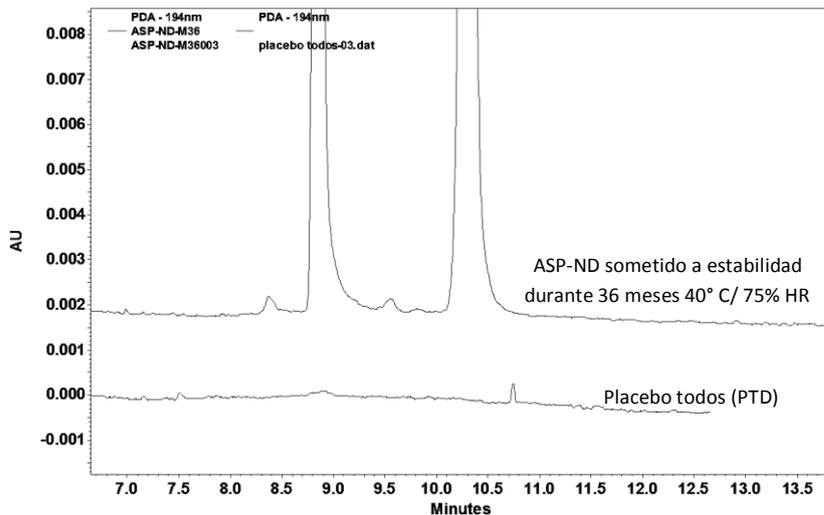


FIGURA 4-anexo H. Zoom del electroferograma anterior

También se puede observar que la señal a los 9.5 minutos no es del placebo, pero esta puede ser debida a la degradación de algún excipiente, para ello se deben realizar más pruebas.

Anexo I. Estudio de ASP-CCB

Para determinar los productos de degradación que se pudieran haber formado en el medicamento ASP-CCB, se midió la muestra sometida a estabilidad acelerada y se compararon los electroferogramas tanto del placebo como el del producto comercial para determinar si había o no presencia de productos de degradación, obteniendo la siguiente figura:

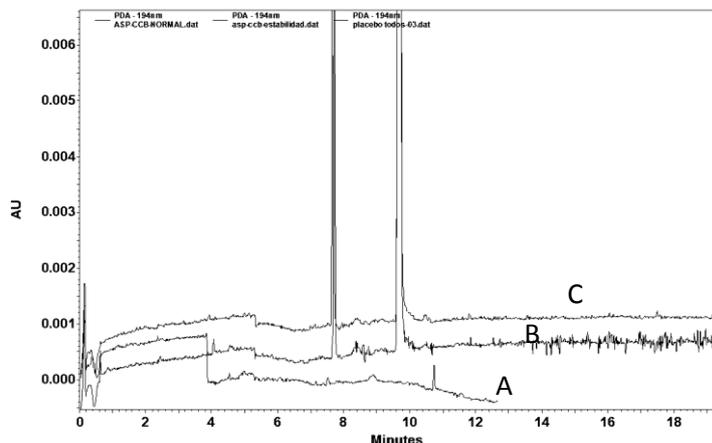


FIGURA 1-anexo I. Comparación de electroferogramas donde: A: Placebo todos, B: Producto comercial, C: Producto comercial sometido a estabilidad por el fabricante durante 12 semanas a 40°C/ 75% HR.

A pesar de que no se observa ninguna señal adicional a la de los principios activos en el producto ASP-CCB (figura 1-anexo I), se procedió a agregar los estándares de los posibles productos de degradación para corroborar que estos no se encontraban presentes en dicha muestra.

Identificación de CNOx

Para identificar CNOx en la muestra se agregaron 10 µL del estándar concentrado, cabe señalar que en esta medición ya se adicionó el estándar interno 3-AF, por lo cual hay dos señales adicionales a las de los dos principios activos.

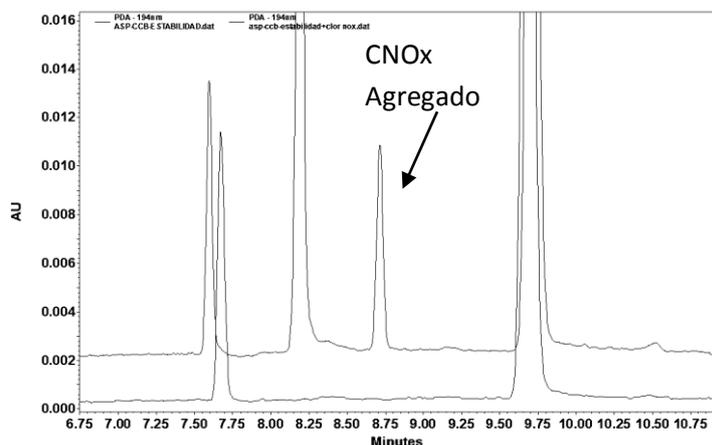


FIGURA 2-anexo I. Comparación de electroferogramas para la identificación de CNOx en ASP-CCB sometido a estabilidad acelerada durante 36 meses a 40°C/ 75% HR

No se observó la presencia de un pico extra a los de los principios activos, por lo que no se agregaron más estándares para la identificación de estas señales.

Anexo J. Estudio de XL-3

La muestra se sometió a estabilidad durante 1 mes y 20 días a una temperatura de 40° C y un porcentaje de humedad relativa de 75 %.

Para llevar a cabo la medición de la muestra se pesaron 0.7783 g del contenido de una capsula, estos se disolvieron en agua desionizada, se sonicó durante 30 minutos y posteriormente se llevaron a un aforo de 20 mL.

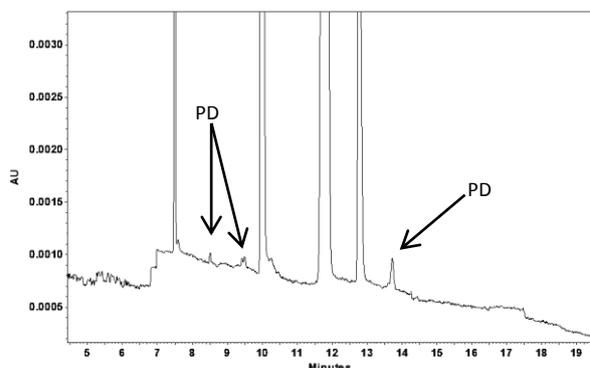


FIGURA 1-anexo J. Electroferograma de XL-3 sometido a estabilidad acelerada durante 1 mes y 20 días a 40° C / 75% HR.

Como se puede observar en el electroferograma anterior (figura 1-anexo J) se aprecian señales de posibles productos de degradación, los cuales se analizaron para determinar si estas señales corresponden a los productos de degradación conocidos.

Identificación de CNOx

Para la identificación de CNOx en la muestra se hicieron adiciones consecutivas del estándar concentrado, de esta forma se hizo crecer poco a poco el pico para corroborar el crecimiento de la señal que interesa.

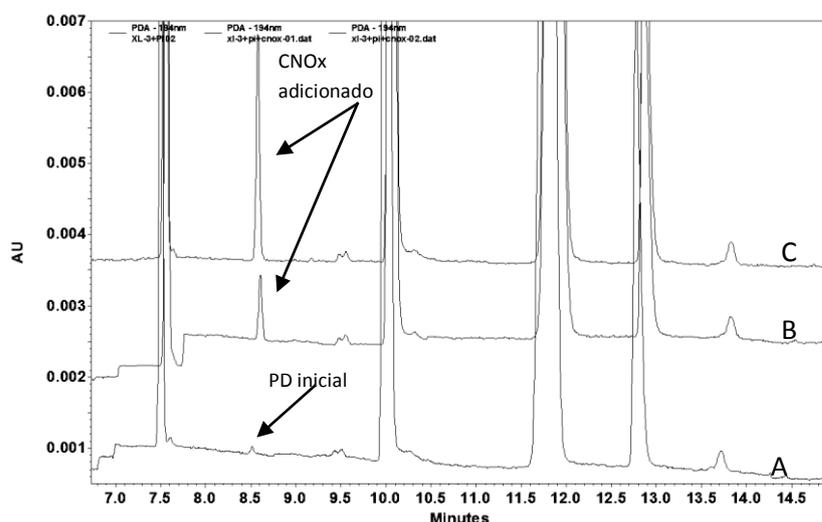


FIGURA 2-anexo J. Electroferogramas para la identificación de CNOx en la muestra sometida a estabilidad donde: A: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 0.5 µL de estándar CNOx concentrado y C: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 1 µL de estándar CNOx concentrado.

De acuerdo al electroferograma anterior (figura 2- anexo J) se puede observar que a medida que se agrega el estándar, la señal que aparece a los 8.5 minutos

aproximadamente va aumentando, por lo tanto se corrobora la presencia de CNOx en la muestra sometida a estabilidad.

Identificación de DeNOx

En la identificación de DeNOx se agregó el estándar concentrado poco a poco para poder hacer crecer el pico de interés, dando como resultado el siguiente electroferograma:

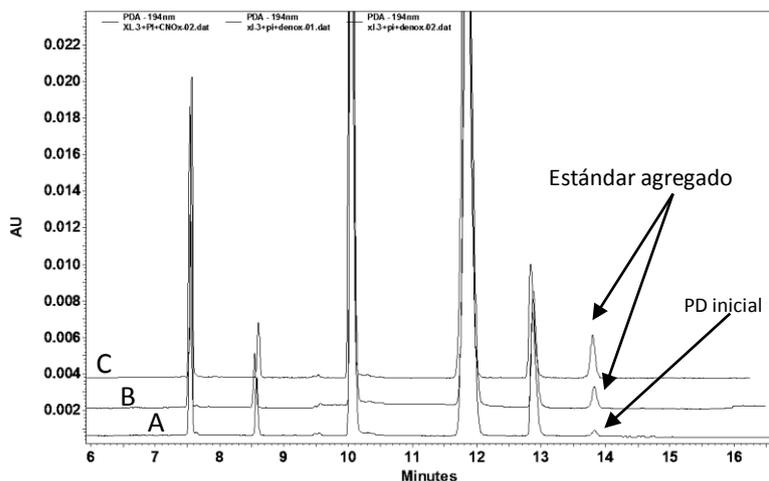


FIGURA 3-anexo J. Electroferogramas de la adición de DeNOx en la muestra sometida a estabilidad donde: A: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 0.5 µL de estándar DeNOx concentrado y C: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 1 µL de estándar DeNOx concentrado.

Se puede observar en el electroferograma figura 3-anexo J que se encuentra la presencia de DeNOx en la muestra sometida a estabilidad, debido a que al agregar el estándar la señal que sale aproximadamente a los 13.8 minutos aumenta.

Identificación de TH-4,6

Tras la identificación de CNOx y DeNOx en la muestra se prosiguió a identificar TH-4,6 dando como resultado que hay un aumento gradual de la señal presente a los 9.9 minutos, lo cual corresponde al isómero TH-4,6 (figura 4-anexo J).

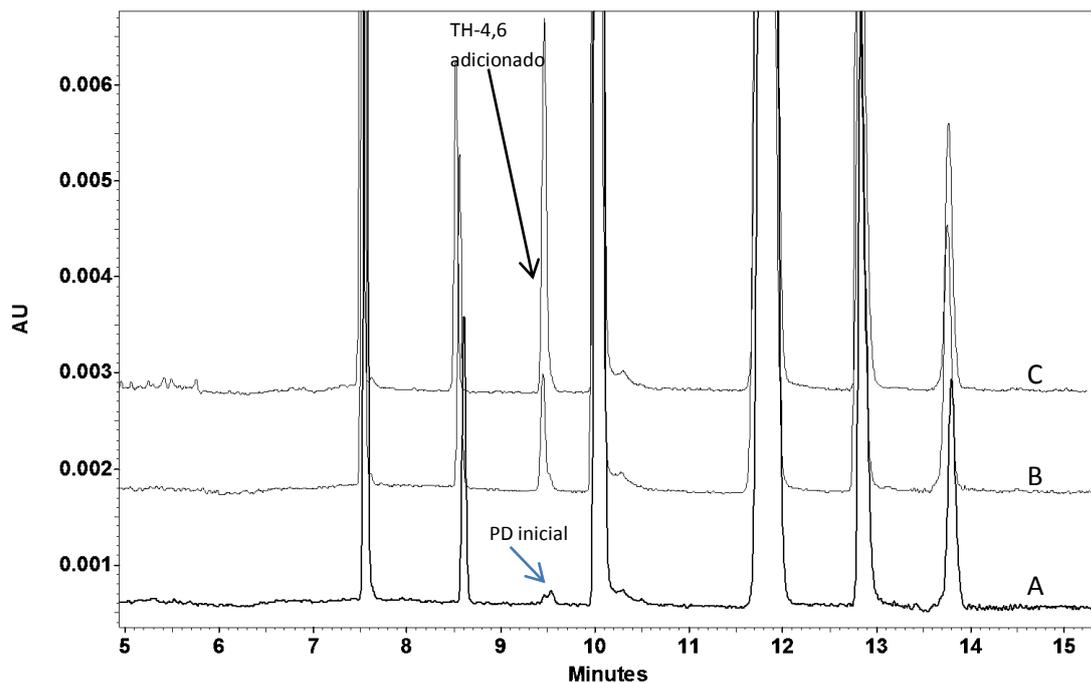


FIGURA 4-anexo J. Electroferograma de la identificación de TH-4,6 en la muestra XL-3 donde: A: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 0.5 μ L de estándar TH-4,6 concentrado y C: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 1 μ L de estándar TH-4,6 concentrado.

Identificación de TH-4,8

Una vez identificado el isómero TH-4,6, se procedió a identificar el isómero TH-4,8 obteniendo el siguiente electroferograma:

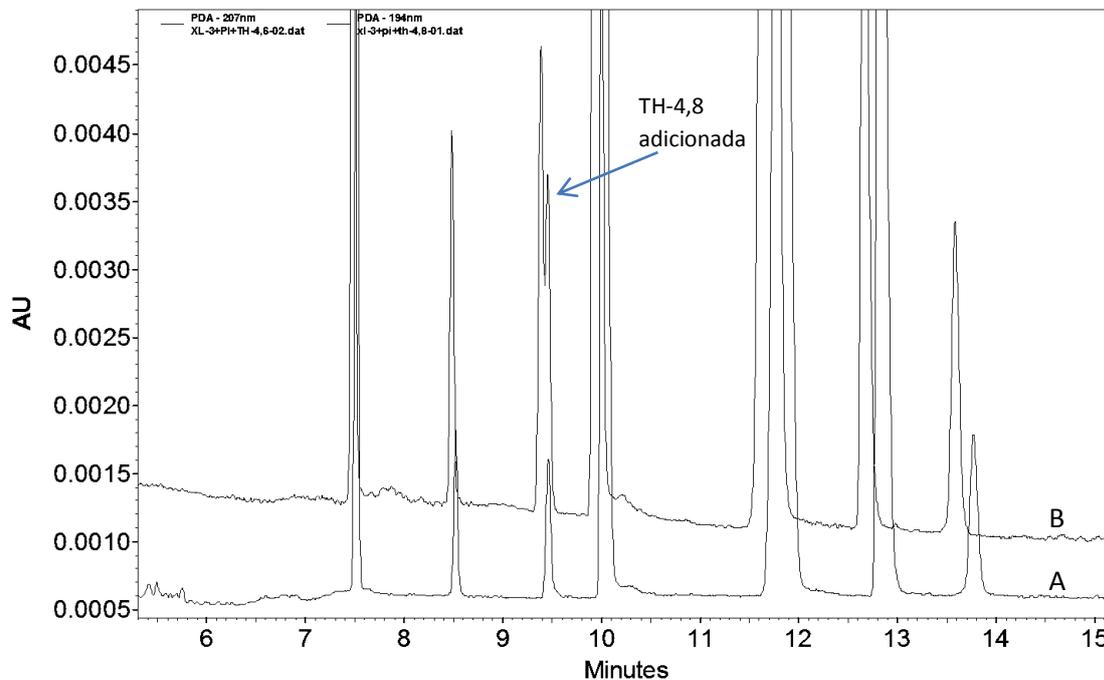


FIGURA 91-anexo. Electroferograma de la identificación de TH-4,8 en la muestra sometida a estabilidad acelerada, donde: A: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más

estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad XL-3 más estándar interno con 1 μ L de estándar TH-4,8 concentrado.

En el electroferograma anterior se puede observar que al agregar el estándar concentrado de TH-4,8 se adiciona un pico a la señal del minuto 9.9, con esto se establece también la presencia de dicho producto de degradación en la muestra.

Por lo tanto el medicamento antigripal XL-3 tiene como productos de degradación CNO_x, DeNO_x e isómeros.

Anexo K. Estudio de LM6

Para el caso de este medicamento, no se sometió a estabilidad acelerada, ya que este caducó en Julio de 2007, es un jarabe con una coloración amarillenta. Dicho jarabe contiene como principios activos P y MC, por lo tanto se espera que se tengan como productos de degradación 4-AF y CNO_x.

Para preparar la solución de medición se agregaron 4 mL del jarabe, los cuales se aforaron a 20 mL, posteriormente se midió la solución resultante dando el siguiente electroferograma:

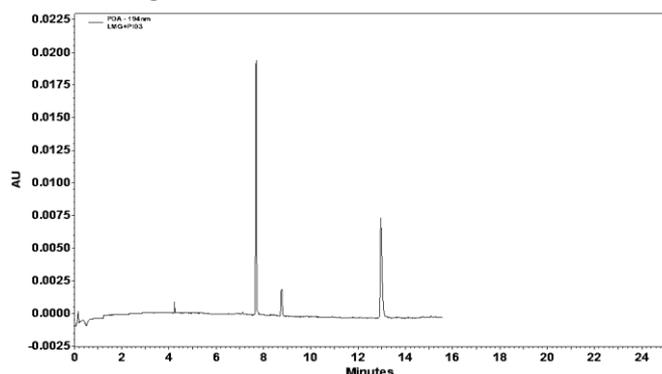


FIGURA 1-anexo K. Electroferograma de LM6 sometido a estabilidad acelerada durante 1 mes y 20 días.

En el electroferograma anterior (figura 1-anexo K) se puede apreciar que a simple vista hay una señal adicional a la de los principios activos, dicha señal se encuentra en un tiempo de migración de aproximadamente 8.8 minutos y no se observa la presencia de alguna otra señal adicional.

Identificación de CNO_x

Para la identificación de CNO_x en la muestra se hicieron adiciones progresivas para hacer crecer el pico de interés, dando el siguiente electroferograma como resultado:

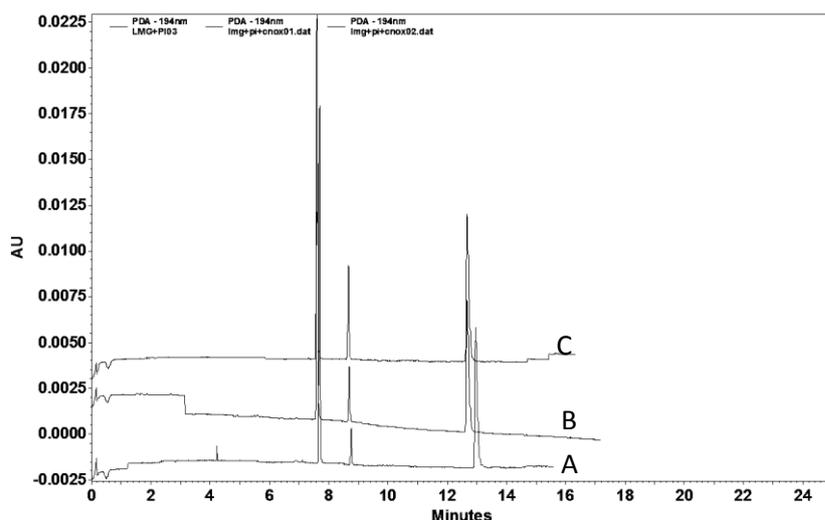


FIGURA 2-anexo K. Electroferogramas de la adición de CNOx a la muestra LM6 donde: A: Electroferograma de la muestra LM6 con la adición de patrón interno, B: Electroferograma de la muestra LM6 con la adición de patrón interno más la adición de 0.5 μL de CNOx concentrado y C: Electroferograma de la muestra LM6 con la adición de patrón interno más la adición de 1 μL de CNOx concentrado.

De acuerdo al electroferograma anterior se puede observar que tras cada adición de estándar CNOx se incrementa el pico con tiempo de migración de aproximadamente 8.8 minutos, por lo tanto con esto se corrobora la presencia de CNOx en la muestra.

Identificación de 4-AF

La identificación de 4-AF, se realizó agregando 2 μL de estándar concentrado a la muestra y para apreciar el crecimiento del pico se realizó un offset de $x=0.2$, ya que al traslapar los electroferogramas este no se observaba por que se traslapa con la señal de MC.

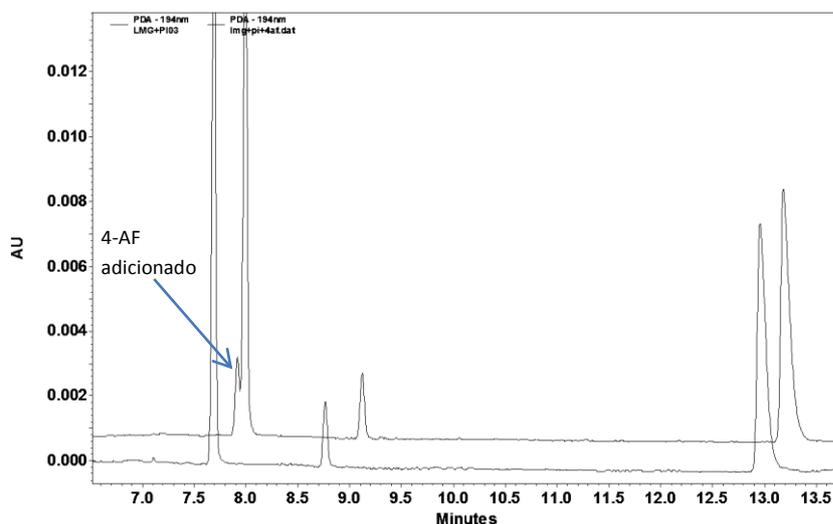


FIGURA 3-anexo K. Identificación de 4-AF en la muestra LMG.

De acuerdo al electroferograma anterior se puede apreciar que no hay presencia de 4-AF en la muestra LM6.

Por lo tanto la solución LM6 tiene como producto de degradación solamente CNOx.

Anexo L. Estudio de Contact Ultra

Se pesaron 10 tabletas y se molieron en un mortero, posteriormente se pesó el polvo equivalente del peso promedio por pastilla. El polvo se disolvió en agua desionizada, se sónico durante 30 minutos y posteriormente se filtró para llevar a un aforo de 20 mL. La muestra se sometió a estabilidad durante 1 mes y 20 días a una temperatura de 40°C y un porcentaje de humedad relativa de 75 %.

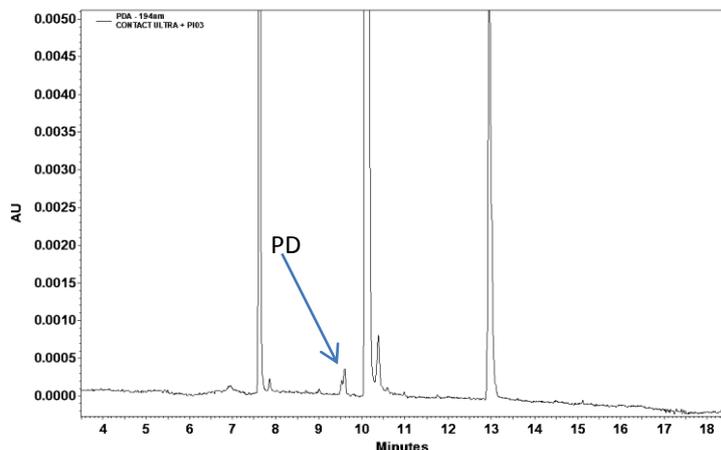


FIGURA 1-anexo L. Electroferograma de Contact Ultra con patrón interno sometido a estabilidad acelerada durante un mes y 20 días 40°C y 75% HR.

Se observa en la figura 1-anexo L que hay la presencia de un producto de degradación que posteriormente se identificó.

Identificación de TH-4,8

Se adiciono 1 µL del estándar concentrado de TH-4,8 y se midió la solución obteniendo el siguiente resultado:

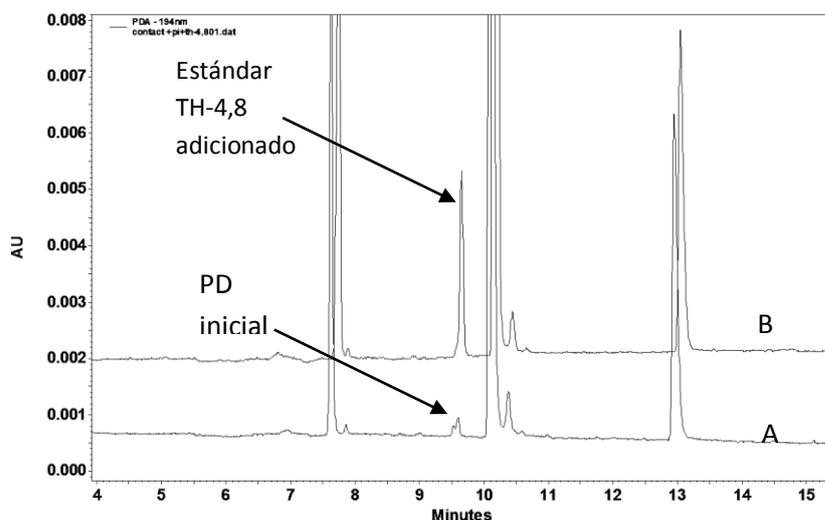


FIGURA 2-anexo L. Electroferograma de la identificación de TH-4,8 en contact ultra donde: A: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno, B: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno con 1µL de estándar concentrado de TH-4,8.

De acuerdo al electroferograma figura 2-anexo L se puede observar la presencia de TH-4,8 en la muestra sometida a estabilidad acelerada, debido al crecimiento del pico al minuto 9.8 aproximadamente.

Identificación de TH-4,6

En la figura 3-anexo L se puede observar que tras adicionar crece un pico en un tiempo de migración de 9.7, por lo cual se concluye que este producto de degradación se encuentra presente en la muestra sometida a estabilidad acelerada.

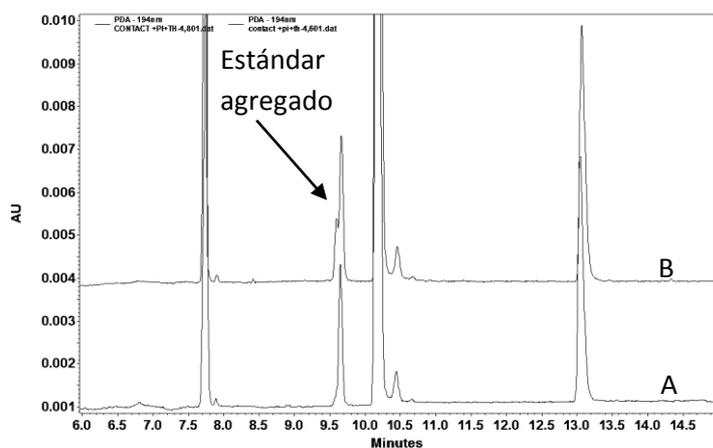


FIGURA 3-anexo L. Identificación de TH-4,6 en contact ultra donde: A: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno y B: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno con 0.5 µL de estándar concentrado de TH-4,6.

Identificación de CNOx

Se procedió a determinar si estaba presente CNOx, obteniendo el siguiente electroferograma:

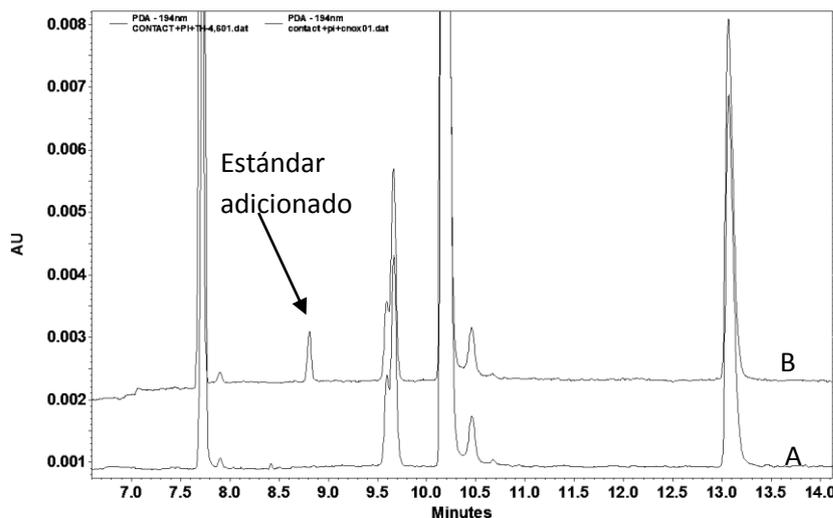


FIGURA 4-anexo L. Electroferogramas de la identificación de CNOx en Contact Ultra donde A: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno y B: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno con 0.5 µL de estándar concentrado de CNOx.

Se puede observar en la figura 4-anexo L que no se encuentra la presencia de CNOx en la muestra, debido a que antes de agregar el estándar no hay ninguna señal en el tiempo de migración aproximado a 8.7 minutos.

Identificación de 4-AF

Se puede observar en el electroferograma anterior que no se encuentra la presencia de 4-AF en la muestra sometida a estabilidad.

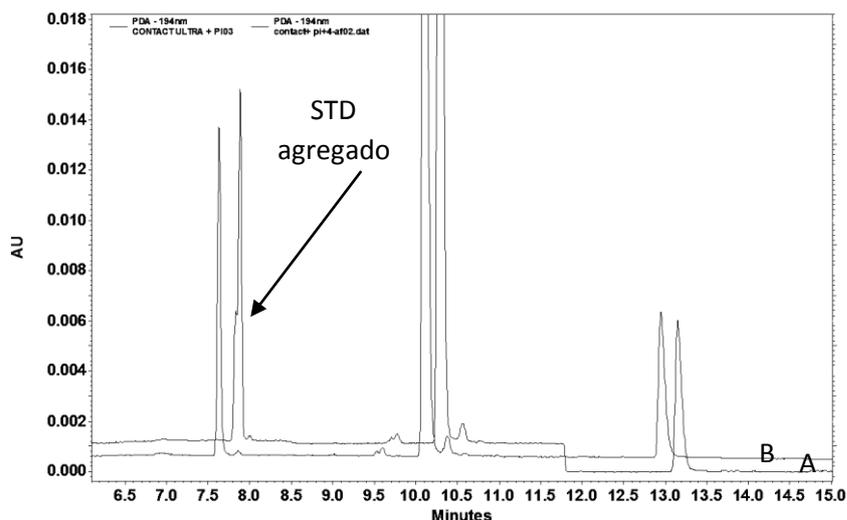


FIGURA 5-anexo L. Comparación de electroferogramas para determinación de 4-AF donde A: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno B: Muestra Contact ultra sometida a estabilidad acelerada más estándar interno con 4 μ L de estándar concentrado de 4-AF.

Una vez que se hicieron las adiciones del estándar se determinó que los productos de degradación presentes en la muestras Contact Ultra son los isómeros.

Anexo M. Estudio de Vick Pyrena

La muestra se sometió a estabilidad durante 1 mes y 20 días a una temperatura de 40°C y un porcentaje de humedad relativa de 75 %.

Para llevar a cabo la medición de la muestra se pesaron 5.0003 g del contenido de un sobre, estos se disolvieron en agua desionizada, se sonicaron durante 30 minutos y posteriormente se filtraron para llevar a un aforo de 20 mL.

Se midió por triplicado el producto sometido a estabilidad como se muestra a continuación:

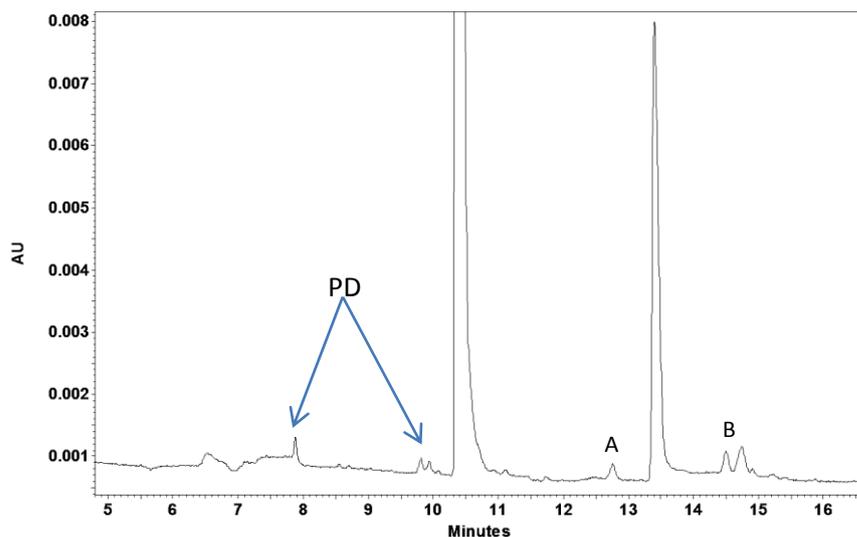


FIGURA 1-anexo M. Electroferograma de Vick Pyrena sometido a estabilidad acelerada.

Como se puede observar en la figura 1-anexo M se señalan los posibles productos de degradación presentes en la muestra de acuerdo a los principios activos que este contiene y posteriormente se muestra la identificación de cada uno de ellos; las señales marcadas con las letras A y B, no se sabe que productos de degradación son debido a que no se cuenta con estos estándares.

Identificación de TH-4,6

Para llevar a cabo la identificación de TH-4,6 se hicieron adiciones consecutivas del estándar concentrado a la muestra sometida a estabilidad y de esta forma hacer crecer el

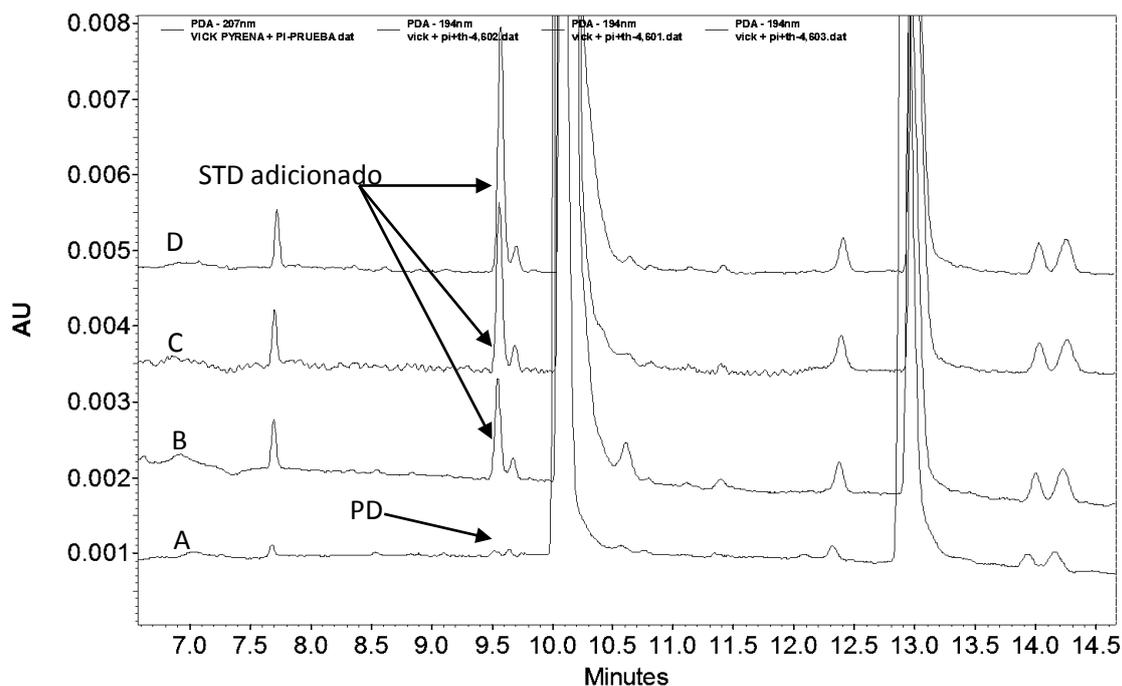


FIGURA 2-anexo M. Electroferogramas de las adiciones consecutivas de TH-4,6 donde: A: Muestra sometida a estabilidad Vick Pyrena, B: Muestra sometida a estabilidad Vick Pyrena con 0.5 μL de estándar TH-4,6 concentrado, C: Muestra sometida a estabilidad Vick Pyrena con 1 μL de estándar TH-4,6 concentrado y D: Muestra sometida a estabilidad Vick Pyrena con 2 μL de estándar TH-4,6 concentrado.

En la figura 2-anexo M se puede observar que tras hacer las adiciones hay un crecimiento en la señal en un tiempo de migración de aprox. 9.5, con esto se corrobora la presencia de TH-4,6 en la muestra sometida a estabilidad.

Identificación de TH-4,8

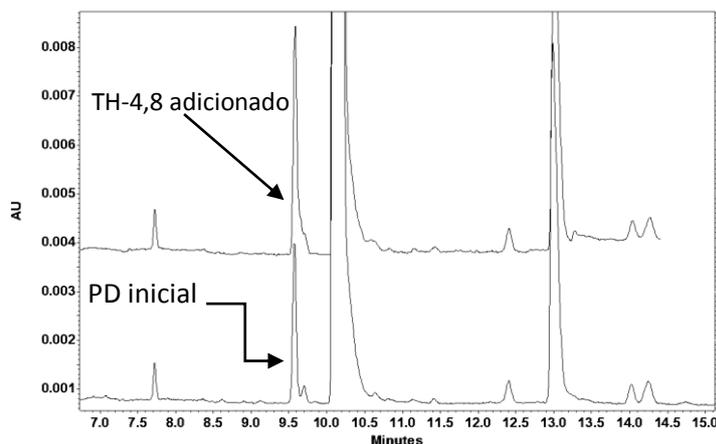


FIGURA 3-anexo M. Electroferogramas traslapados para la identificación de TH-4,8 en Vick Pyrena sometido a estabilidad.

Para este caso, se puede observar que no hay un crecimiento de la señal a los 9.6 minutos como tal pero se aprecia un ensanchamiento del pico a los 9.5 minutos, y a los 9.6 minutos el pico pequeño desaparece, por lo cual esto se atribuye al crecimiento de dicho producto de degradación.

Identificación de 4-AF

La identificación de 4-AF en la muestra se realizó agregando 2 μ L del estándar concentrado a la muestra para hacer crecer el pico, obteniendo el siguiente electroferograma:

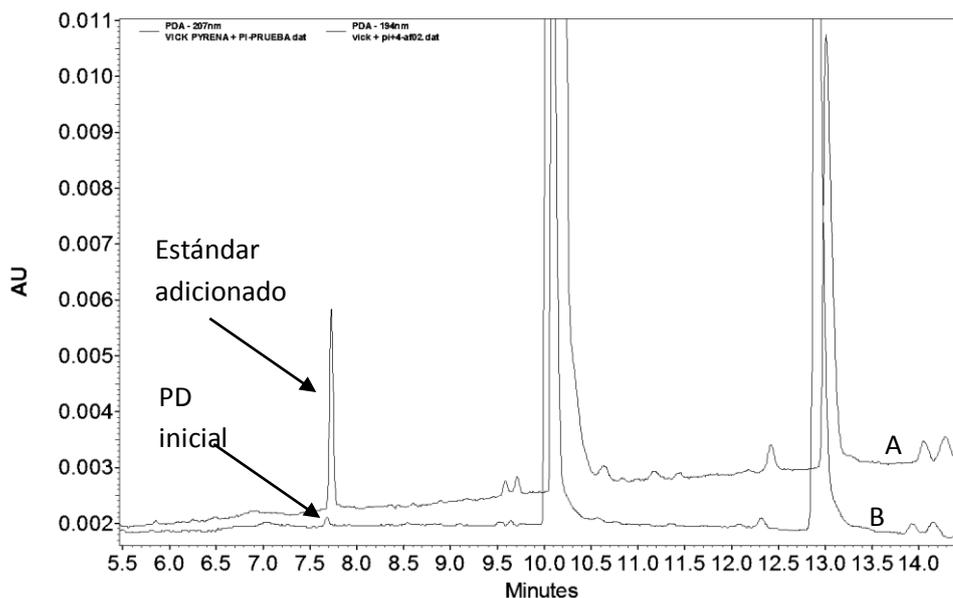


FIGURA 4-anexo M. Electroferogramas traslapados para la identificación de 4-AF donde: A: Muestra sometida a estabilidad Vick Pyrena, B: Muestra sometida a estabilidad Vick Pyrena con 2 μ L de estándar concentrado.

Se puede observar que al agregar el estándar la señal que creció fue la que está en un tiempo de migración de aprox. 7.5, por lo tanto con esto se corrobora la presencia de 4-AF en la muestra.

Tras realizar el análisis de la muestra se aprecia que los productos de degradación presentes en la muestra Vick pyrena son 4-AF e isómeros.

Anexo N. Estudio de Taylex Flu

La muestra se sometió a estabilidad durante 1 mes y 20 días a una temperatura de 40°C y un porcentaje de humedad relativa de 75 %.

Para llevar a cabo la medición de la muestra se pesaron 0.6808 g (peso promedio de una tableta) estos se disolvieron en agua desionizada, se sonicó durante 30 minutos y posteriormente se llevaron a un aforo de 20 mL.

Se midió el producto sometido a estabilidad como se muestra a continuación:

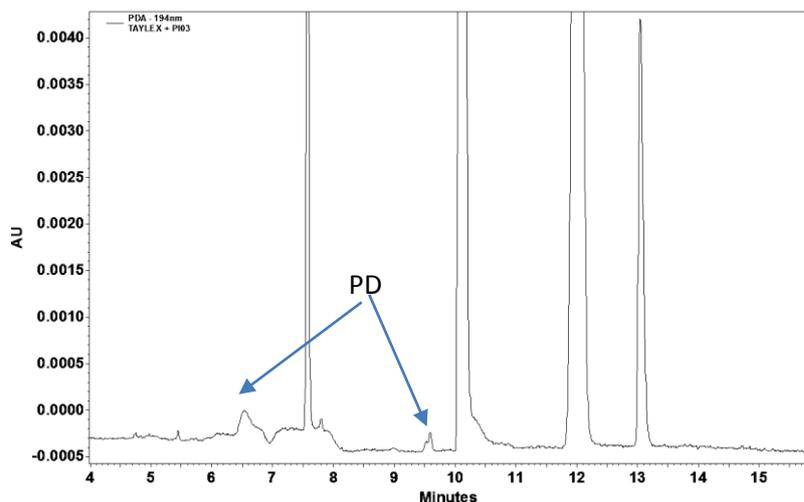


FIGURA 1-anexo N. Electroferograma de Taylex sometido a estabilidad acelerada a 40° C y 75 % HR.

Se puede observar en figura 1-anexo N la presencia de posibles productos de degradación que posteriormente se analizan.

Identificación de 4-AF

Se observa un incremento del pico de MC, esto es debido a que el 4-AF se adiciono y se traslapan ambas señales para esta muestra (figura 2-anexo N).

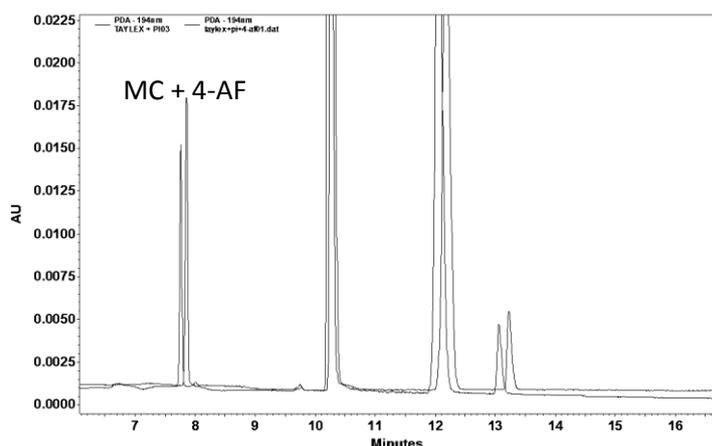


FIGURA 2-anexo N. Comparación de electroferogramas para la identificación de 4-AF donde el electroferograma “rojo” es sin la adición del estándar concentrado de 4-AF.

Por lo tanto como se encuentran traslapadas las señales no se puede asegurar que hay o no presencia de 4-AF, por lo cual se dice que este producto de degradación no se encuentra presente.

Identificación de CNOx

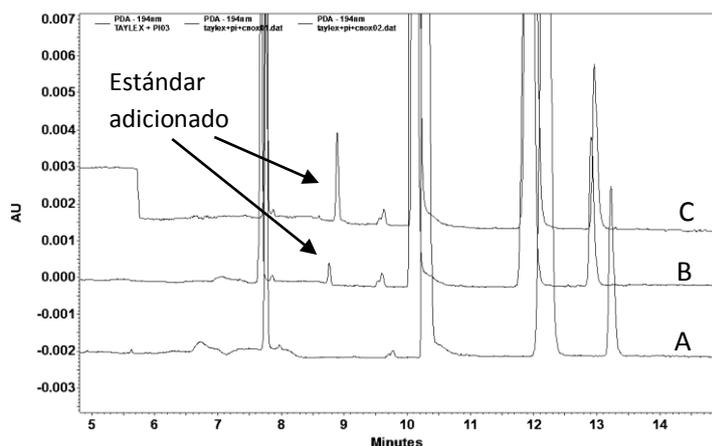


FIGURA 3-anexo N. Comparación de electroferogramas para identificación de CNOx donde: A: Muestra sometida a estabilidad Taylex más PI, B: Muestra sometida a estabilidad Taylex más PI más 0.5 μ L de estándar CNOx concentrado y C: Muestra sometida a estabilidad Taylex más PI más 1 μ L de estándar CNOx concentrado.

Se puede apreciar que tras la adición consecutiva de estándar concentrado de CNOx no se observa la presencia de este en la muestra sometida a estabilidad acelerada, ya que en el electroferograma marcado como A, no se encuentra ninguna señal en el tiempo de migración aproximado de 8.5.

Identificación de DeNOx

Posterior a la adición de CNOx, se adicione DeNOx, para su identificación, comparando los electroferogramas C y B con A en la figura 4-anexo N, se puede observar que no hay presencia de DeNOx en la muestra sometida a estabilidad.

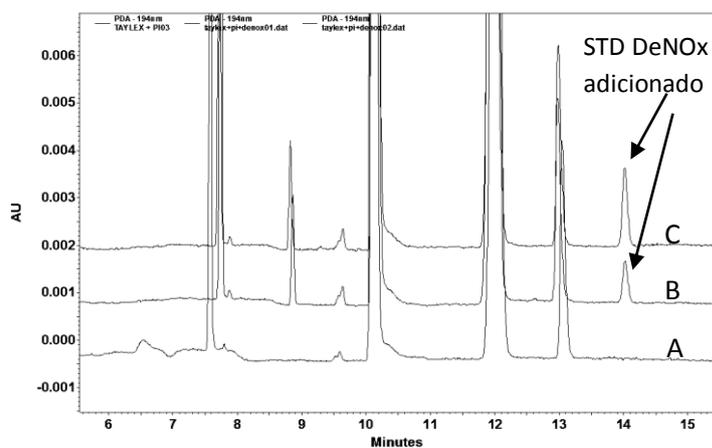


FIGURA 4-anexo N. Comparación de electroferogramas para determinación de DeNOx en la muestra donde: A: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno 0.5 μ L de estándar DeNOx concentrado, C: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno 1 μ L de estándar DeNOx concentrado.

Identificación de TH-4,6

Una vez que se hizo la adición del estándar concentrado de isómero TH-4,6, se observó el crecimiento progresivo de la señal que aparece a los 9.6 minutos aproximadamente, por lo tanto de esta manera se corrobora la presencia de dicho compuesto de degradación en la muestra sometida a estabilidad (figura 5-anexo).

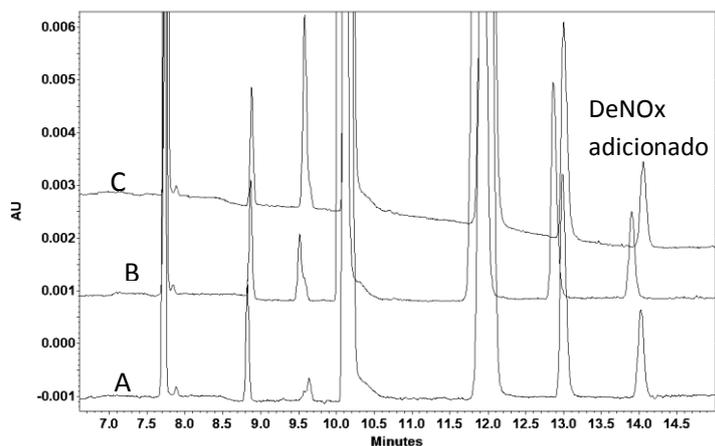


FIGURA 5-anexo N. Identificación de TH-4,6 donde: A: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno 0.5 μ L de estándar TH-4,6 concentrado, C: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno 1 μ L de estándar TH-4,6 concentrado.

Identificación de TH-4,8

Ya que se identificó uno de los isómeros, se procedió a la identificación el otro (TH-4,8), adicionando el estándar concentrado en el mismo vial para la determinación de este en la muestra, obteniendo el siguiente resultado:

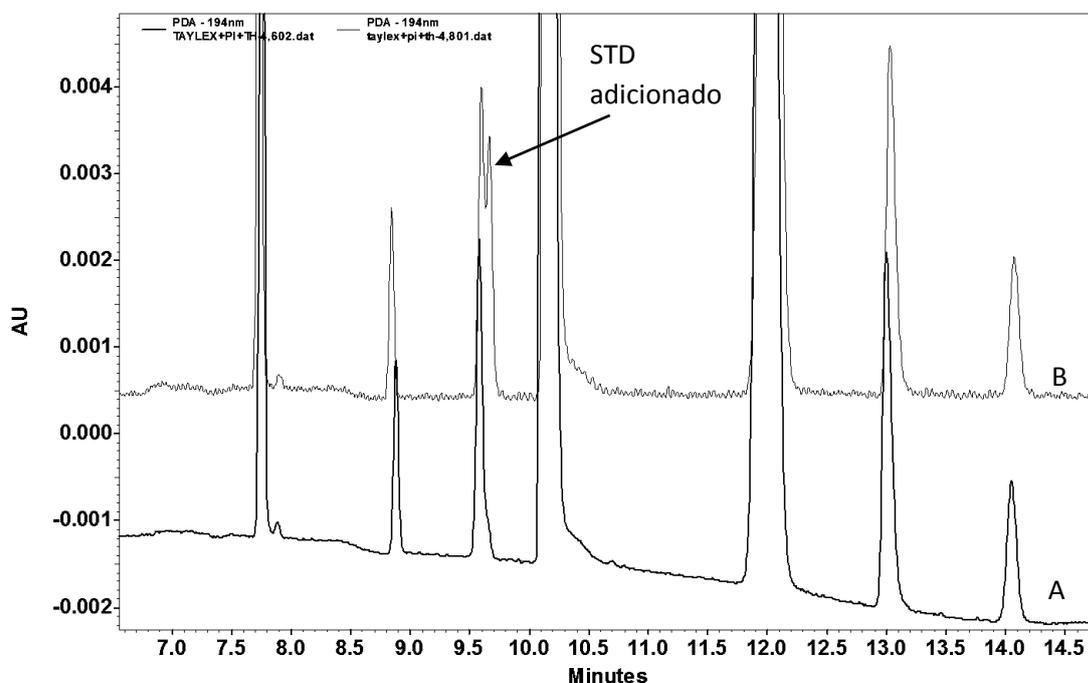


FIGURA 6-anexo N. Electroferograma para la identificación de TH-4,8 donde: A: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno, B: Muestra sometida a estabilidad Taylex más estándar interno 1 μ L de estándar TH-4,8 concentrado.

Se observa que tras la adición del estándar concentrado hay una señal adicional al lado de la del isómero TH-4,6, por lo cual se corrobora la presencia del isómero TH-4,8 en la muestra sometida a estabilidad, de esta forma se corroboró la presencia de los dos isómeros en la muestra sometida a estabilidad como únicos productos de degradación.

Anexo Ñ. Estudio de Desenfriol D

Este medicamento se sometió a estabilidad acelerada durante 1 mes y 20 días a 40°C y 75 % humedad relativa. Contiene como principios activos P, CF y MC, por lo tanto se espera que se tenga como productos de degradación 4-AF, CNOx e isómeros TH-4,6 y TH-4,8.

Para preparar la solución de medición se pesaron 0.7995 g los cuales se disolvieron y aforaron a 20 mL con agua desionada, posteriormente se midió la solución resultante dando el siguiente electroferograma:

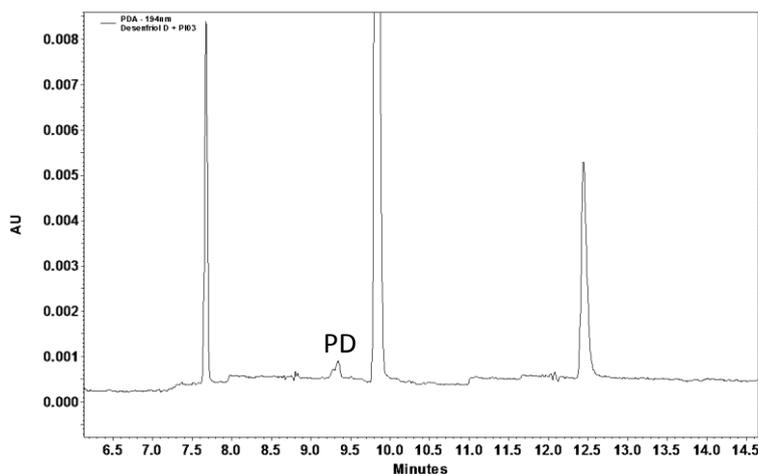


FIGURA 1-anexo Ñ. Electroferograma de Desenfriol D sometido a estabilidad acelerada.

En el electroferograma anterior se observa que se encuentra la presencia de una señal adicional a las señales de los principios activos en un tiempo de migración de 9.4 aproximadamente, esta señal se identifica como se muestra a continuación.

Identificación de CNOx

Para la identificación del pico adicional se agregó el estándar del cual se sospechaba obteniéndose el siguiente electroferograma:

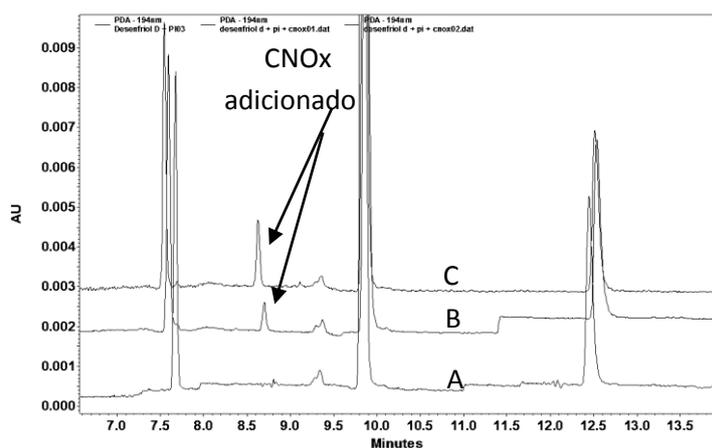


FIGURA 2-anexo Ñ. Comparación de electroferogramas para la identificación de CNOx en la muestra sometida a estabilidad. A: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno, B: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno con 0.5 µL de CNOx concentrado y C: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno con 1 µL de CNOx concentrado.

Se puede observar en la figura 2-anexo Ñ que no hay presencia de CNOx en la muestra sometida a estabilidad acelerada.

Identificación de TH-4,6

Se hicieron adiciones consecutivas del estándar concentrado obteniendo el siguiente resultado:

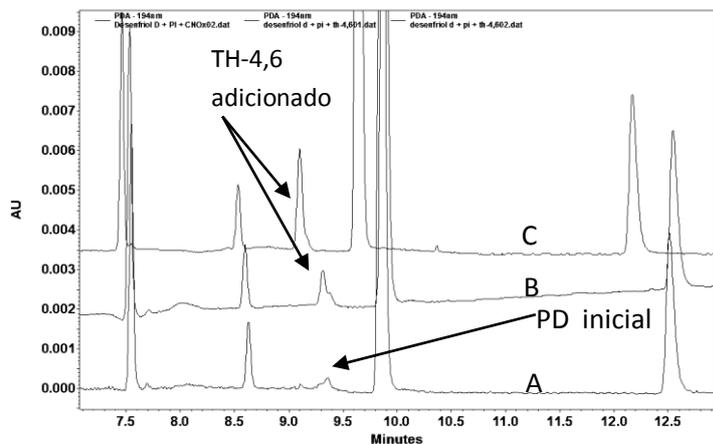


FIGURA 3-anexo Ñ. Comparación de electroferogramas para la identificación de TH-4,6 donde: A: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno, B: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno con 0.5 µL de TH-4,6 concentrado y C: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno con 1 µL de TH-4,6 concentrado.

Se puede observar en la figura 3-anexo Ñ que con las adiciones progresivas del estándar concentrado se confirma la presencia del isómero TH-4,6 en la muestra como producto de degradación.

Identificación de TH-4,8

Se hicieron adiciones consecutivas del estándar concentrado obteniendo el siguiente resultado:

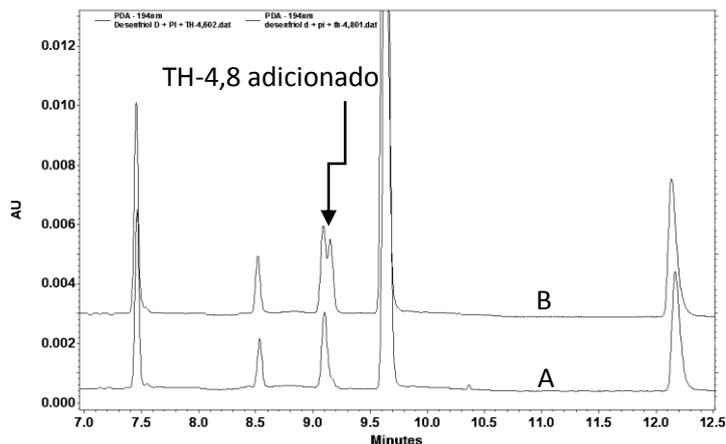


FIGURA 4-anexo Ñ. Comparación de electroferogramas para la identificación de TH-4,8 donde: A: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno y B: Muestra sometida a estabilidad Desenfriol D más patrón interno con 1 µL de TH-4,8 concentrado.

De acuerdo a la figura anterior se puede observar la presencia de TH-4,8 en la muestra sometida a estabilidad acelerada.

Por lo que para la muestra Desenfriol D, se tiene como productos de degradación a los isómeros, ya que estos se observaron únicamente.

Anexo O. Estudio de la degradación forzada de ASP-SCF con peróxido de hidrogeno al 30%.

Para llevar a cabo la degradación forzada se disolvió un efervescente en 20 mL de peróxido de hidrogeno al 30%, posteriormente se sometió a baño maria durante 1 hora, la solución resultante se filtró y se midió en el equipo de electroforesis capilar.

La solución obtenida estaba muy concentrada, por lo que esta se diluyó tomando 5mL de muestra en 20 mL de agua desionizada, dando como resultado el siguiente electroferograma:

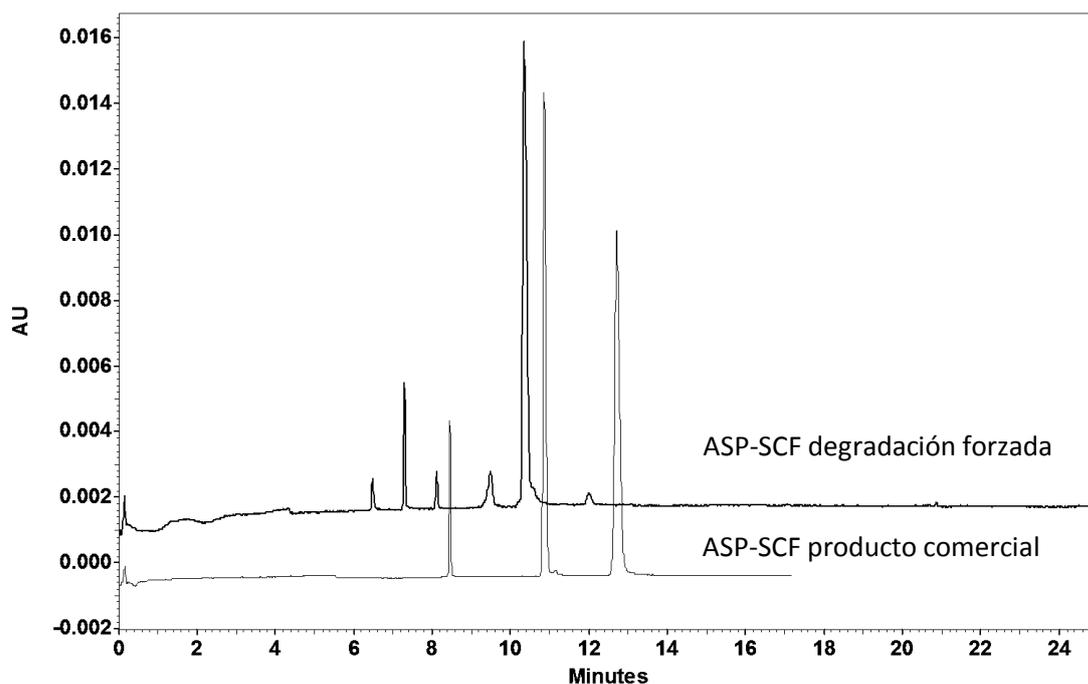


FIGURA 1-anexo O. Comparación de electroferogramas de ASP-SCF producto comercial y ASP-SCF degradación forzada.

En la figura 1-anexo O se pudo observar que hay la presencia de un número mayor de picos en ASP-SCF sometido a degradación forzada que en ASP-SCF producto comercial, esto es debido a que la muestra se degrada, posteriormente se analiza cada una de las señales para identificar los productos de degradación obtenidos en la muestra sometida a degradación forzada con peróxido de hidrogeno al 30 %.

Para determinar la presencia de CNO_x en la muestra sometida a degradación forzada, se adicionaron 200 µL de dicho producto de degradación en la muestra, obteniendo así el siguiente electroferograma:

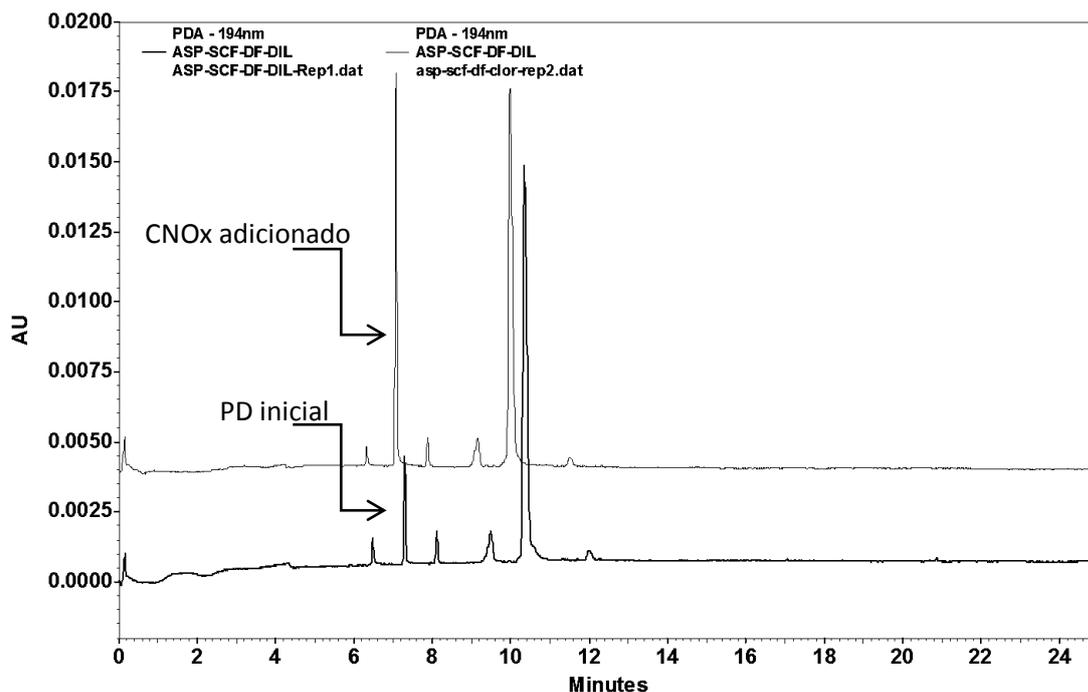


FIGURA 2-anexo O. Electroferograma de la adición de CNOx en la muestra de ASP-SCF sometida a degradación forzada con peróxido de hidrogeno al 30%.

Tras la adición del estándar de CNOx se puede afirmar que en ASP-SCF degradación forzada existe la presencia de dicho producto de degradación, proveniente del maleato de clorfeniramina, ya que hay un incremento en una de las señales.

La presencia de DeNOx en la muestra sometida a degradación forzada se observó con la adición de 200 μ L del estándar de producto de degradación, obteniendo de esta forma el crecimiento de una de las señales como se muestra a continuación:

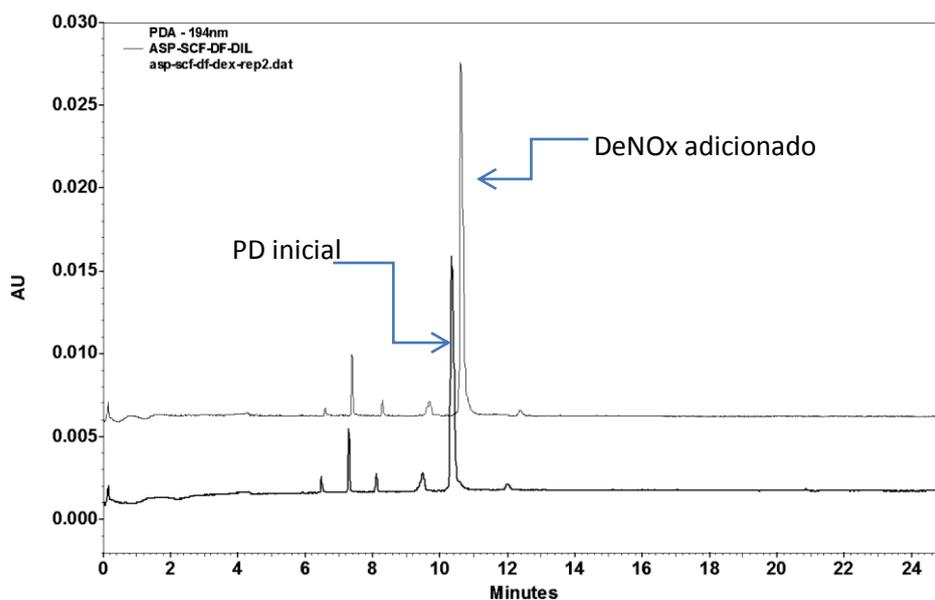


FIGURA 3-anexo O. Electroferograma de la adición de DeNOx en ASP-SCF sometida a degradación forzada.

Con la figura anterior se puede observar el incremento de uno de los picos, por lo que este incremento se relaciona a la presencia de DeNOx en la degradación forzada, este producto de degradación proviene del bromohidrato de dextrometorfano.

Otro de los productos de degradación esperados es el 4-AF proveniente de la degradación del paracetamol, por lo que para la identificación de este componente se adicionan 200 μ L del estándar de 4-AF, observándose así el incremento en el primer pico, debido a esto se corrobora la presencia de este producto de degradación en la muestra sometida a degradación forzada con peróxido de hidrogeno al 30% (FIGURA 4-anexo O).

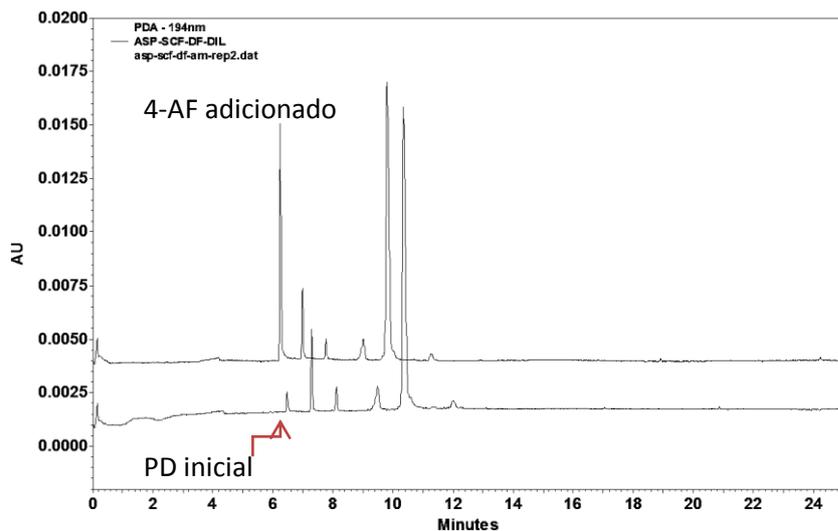


FIGURA 4-anexo O. Electroferograma de la adición de 4-AF en ASP-SCF sometida a degradación forzada.

Por ultimo para este producto se esperaba la presencia de los isómeros (TH-4,6 y TH-4,8) por lo que se adicionaron 200 μ L del estándar a la solución de degradación forzada, con ello se observó el incremento en una de las señales por lo que se corrobora con esto la presencia de los isómeros (FIGURA 5-anexo O).

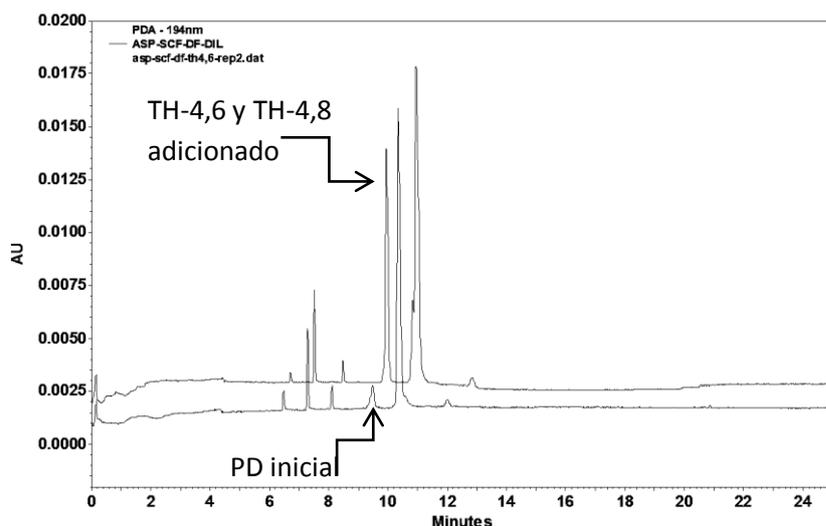


FIGURA 5-anexo O. Electroferograma de la adición de TH-4,6 en ASP-SCF sometida a degradación forzada.