



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA

ESTUDIO DE PREFORMULACIÓN Y FORMULACIÓN DE
CÁPSULAS DE POLVO DE *Sechium edule nigrum spinosum*
354 y *Sechium edule nigrum spinosum* 290.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

SANDRA CORTÉS FLORES

Directora: Dra. Elizabeth Guadalupe Sánchez González

Asesor: Dr. Vicente Jesús Hernández Abad

Ciudad de México, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Investigación Farmacéutica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM; para su realización se contó con el apoyo de la Universidad Nacional Autónoma de México con el proyecto PAPIIT IN 218718 de la Dirección General de Apoyo al Personal Académico (DGAPA) y el apoyo de la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México con el proyecto SECITI 045-2018.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México mi alma mater, por darme un lugar en una de las mejores universidades de México desde mi bachillerato en la preparatoria número 2.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por regalarme una de las mejores épocas de mi vida y por supuesto, a todos mis profesores a lo largo de la carrera quienes me compartieron sus conocimientos y experiencias que me enriquecieron en muchos aspectos de mi vida, no sólo en el académico, sino en el aspecto personal al fortalecer mi lealtad a mí misma y a mis ideales, gracias por su tiempo y por formarme como profesionista.

Al doctor, Vicente Jesús Hernández Abad, por sus enseñanzas y por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de investigación donde aprendí muchas cosas no solamente académicas, por su respeto, la convivencia, las risas, la confianza y el apoyo.

A la doctora, Elizabeth Guadalupe Sánchez González, quien siempre tuvo un momento para escucharme, aconsejarme y darme un abrazo, por regalarme palabras que me hacían seguir adelante, por su paciencia, comprensión y su increíble mar de conocimiento que nunca dudó en compartir conmigo.

A la maestra, Cynthia Espinosa Contreras, por el apoyo, la paciencia y por todas esas risas que nunca faltaron en el laboratorio durante la realización de este proyecto.

A mi madre, Susana Flores Muñoz por creer en mí, por su inmenso amor, sus consejos, sus abrazos y por ser la principal inspiración en mi vida, por su comprensión y su paciencia, por tener ese plato de comida caliente cuando llegaba a casa después de la escuela durante todos esos años y por tener siempre esa sonrisa en su rostro que me hace saber que todo va a estar bien a pesar de cómo se vean las cosas.

A mi padre, Miguel Ángel Cortés Espinosa por su apoyo y esfuerzo para poder salir adelante, por su confianza y su cariño incondicional.

A mi hermano, Ángel Eduardo Cortés Flores, por tener siempre el tiempo y la disposición de escucharme y darme consejos, por su paciencia, comprensión y por recordarme que siempre hay tiempo para las cosas importantes como los amigos, la música y los buenos momentos que pasamos juntos y que hacen que la vida sea maravillosa. Gracias por recordarme que siempre debo ser yo misma. Admiro esas ganas increíbles de hacer lo que te apasiona.

A mi abuelo, Eduardo Flores Rodríguez, por sus palabras, sus consejos e incluso sus regaños que me han hecho ser una mejor persona, agradezco sus enseñanzas y todo el apoyo incondicional que me ha dado en muchas etapas de mi vida.

A mi abuela, Gloria Muñoz Nájera, por sus palabras alentadoras, su cariño y su apoyo incondicional.

A mi tía, Yolanda Flores Muñoz quien siempre tiene una sonrisa para el mundo y que me contagia su alegría de vivir, por darse ese pequeño espacio para escuchar todo lo que yo quiera decir, por sus muy acertados consejos y por dejarme ser quien

soy siempre que estoy con ella. Gracias por confiar en mí. Gracias también, a mi prima Nancy Reyes Flores por su cariño.

A la Familia Flores García, a mis tíos Jorge Flores Muñoz y Rafaela García Méndez por recibirme siempre en su casa y por apoyarme con todo lo que estuvo en sus manos, por su cariño y sus palabras de apoyo. A mis primas, Janet Flores García y Brenda Flores García, por su cariño y los detalles bonitos que han tenido conmigo.

A la familia Cortés Espinosa, a mi abuela Alicia Espinosa y a mi abuelo Antonio Cortés, con quienes sé que puedo contar siempre y quienes me han regalado hermosos recuerdos que conservo con cariño en mi memoria.

A todas las personas importantes en este momento de mi vida:

A mi amiga, Mariana Carbajal Cortés, quien me ha dado su sincera amistad y apoyo, y quien siempre tuvo tiempo de escucharme y darme palabras de cariño, aliento y consuelo cuando muchas veces me sentía perdida. Gracias por esas aventuras que hemos tenido juntas. Te quiero mucho.

A mi amigo, Manuel Alejandro Hernández Vargas por su incondicional amistad, apoyo y cariño durante gran parte de la carrera y en la realización de éste proyecto. Gracias por esas pláticas y momentos juntos. Te quiero.

A mi amiga, Frida Reyes Escobedo por enseñarme que la vida simplemente se disfruta a pesar de todas las adversidades que existan.

Al equipo del LIF especialmente al QFB José Ignacio Vázquez por su paciencia y apoyo, así como a los compañeros David Hernández y Jorge Silva, por las risas y anécdotas juntos.

A todos los trabajadores del laboratorio del Hospital Regional de Zona Número 25, el cual sufrió daños en el sismo del pasado 19 de septiembre de 2017 y que espero se reconstruya en los años posteriores a la realización de este trabajo. Quiero dar mi especial agradecimiento al Dr. Salvador Vélez por sus atenciones y a la QFB Raquel Robledo por todo su apoyo y cariño durante mis años como estudiante.

Special thanks to Gabriel Pérez Avendaño for his unconditional support, for his true love, for those afternoons that seemed endless, for those amazing trips, for those wonderful experiences and his confidence in this project and me. I truly hope your dreams will also come true. I love you.

Al licenciado, Alfredo Montiel por darme la oportunidad de continuar con las metas y sueños que tenía en aquella época de mi vida y confirmarle que la oportunidad que me dio, no fue desperdiciada.

A Karen Valladares, por hacerme redescubrir la pasión y amor que siento por mi carrera.

Y no puedo olvidar a mi mascota y amigo de cuatro patas, "Whisky" por tener su compañía en esas largas noches de desvelo y estudio. También es parte de mi vida.

DEDICATORIA

A mi mamá, Susy Flores, por creer en mí y darme la fortaleza de seguir adelante, por ser la luz y la guía en el camino de la vida. Te amo.

A mi papá, Miguel Cortés, quien me ha dado lo que ha estado en sus manos para estar bien y ser feliz. Te amo.

A mi hermano, Ángel Cortés, por ser una motivación para seguir adelante. Siempre vas a poder contar conmigo y espero que siempre estemos juntos. Te amo.

A mis abuelos, Eduardo Flores y Gloria Muñoz, por darme un techo y permitirme ver como envejecen y por compartir conmigo esos viajes y experiencias que siempre voy a guardar con mucho amor en mi corazón. Los amo.

ÍNDICE

1. Resumen.....	12
2. Marco teórico.....	13
2.1 Plantas Medicinales.....	13
2.1.1 <i>Sechium edule</i>	13
2.2. Cucurbitacinas.....	17
2.3 Preformulación.....	21
2.3.1 Investigaciones de estabilidad inicial.....	24
2.3.2 Estabilidad en solución.....	25
2.3.3 Estabilidad en estado sólido.....	25
2.4 Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).....	26
2.4.1 Técnicas de análisis térmico.....	27
2.4.2 Aplicaciones.....	29
2.5 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).....	30
2.6 Medicamento Herbolario.....	32
2.7 Formas Farmacéuticas.....	33
2.7.1 Cápsulas.....	34
2.7.1.1 Elaboración de cápsulas.....	35

2.7.1.2 Cápsulas de gelatina dura.....	37
2.7.1.3 Fabricación.....	38
2.7.1.4 Material de relleno.....	39
2.7.1.5 Llenado de las cápsulas.....	41
2.7.1.6 Controles de calidad.....	43
2.8 Operaciones Unitarias.....	44
2.8.1 Reducción del tamaño de partícula.....	45
2.8.2 Separación por el tamaño de partículas.....	47
2.8.3 Secado.....	48
2.8.4 Mezclado.....	49
2.9 Propiedades de las partículas.....	51
2.9.1 Adherencia y Cohesión.....	51
3. Planteamiento del Problema.....	54
4. Hipótesis.....	55
5. Objetivo.....	55
5.1 Objetivos específicos.....	55
6. Material y método.....	56
6.1 Diseño experimental.....	56
6.2 Equipo e instrumentos.....	57

6.3 Reactivos	58
6.4 Material vegetal	59
6.5 Material	60
6.6 Metodología	62
6.7 Técnicas	63
6.7.1 Caracterización de los polvos.	63
6.7.2 Método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.	63
6.7.2.1 Estándares	63
6.7.2.3 Extracción de cucurbitacinas.	65
6.7.3 Degradaciones forzadas	66
6.7.4 Espectrofotometría por UV.....	68
6.7.5 Distribución de tamaño de partícula	69
6.7.6 Reología.....	69
6.7.6.1 Ángulo de reposo.....	69
6.7.6.2 Velocidad de flujo	70
6.7.6.3 Densidad aparente	70
6.7.6.4 Densidad compactada	71
6.7.7 Prueba de humedad.....	72
6.7.8 Molienda.....	73

6.7.9 Estudio de compatibilidad con excipientes.....	73
6.7.10 Prueba de humedad a excipientes.....	74
6.7.11 Propuesta de formulaciones.....	74
6.7.12 Liberación de fórmula.....	75
6.7.13 Encapsulación.....	75
6.7.13.1 Formulaciones.....	75
6.7.13.1 Placebos.....	76
6.7.14 Ciclaje.....	76
6.7.15 Humedad a excipientes.....	77
6.7.16 Proyecto de marbete.....	77
7. Resultados.....	78
7.1 Descripción.....	78
7.2 Método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).....	81
7.2.1 Estándares.....	81
7.2.2 Análisis de polvo de <i>S. edule dulce</i> y <i>S. edule amargo</i> por separado...	82
7.2.3 Extracción de las cucurbitacinas.....	88
7.3 Degradaciones forzadas.....	92
7.4 Espectrofotometría por UV.....	104
7.5 Prueba de humedad.....	105

7.6 Distribución del tamaño de partícula.....	106
7.7 Reología	108
7.8 Molienda	113
7.9 Estudios de compatibilidad de los excipientes.....	116
7.10 Prueba de humedad a excipientes	125
7.11 Propuestas de formulaciones	125
7.12 Liberación de fórmula	127
7.13 Encapsulación	132
7.14 Ciclaje	133
7.16 Proyecto de marbete.....	139
8. Conclusión.....	141
ANEXO 1: Cromatogramas de degradaciones forzadas.....	148
ANEXO 2. Imágenes de espectros de degradaciones forzadas en el día 9.....	164

1. Resumen

Los estudios de preformulación son importantes tanto en principios activos bien conocidos como en plantas para las que se conocen que tienen algún efecto terapéutico, con el fin de garantizar que se tiene un producto que cuenta con las características necesarias para ser eficaz y seguro para su uso.

En el presente trabajo se realizó el estudio de preformulación de dos polvos de dos variedades de chayote, *Sechium edule nigrum spinosum var. dulce* y *Sechium edule nigrum spinosum var. Amargo*, cuyos extractos han demostrado tener efecto antiproliferativo de varios tipos de células cancerígenas. Para el estudio de preformulación se realizaron degradaciones forzadas en solución y en sólido en diferentes condiciones de humedad y temperatura. Las muestras, se analizaron por la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta resolución y espectrofotometría UV, se hicieron pruebas reológicas para conocer las propiedades de flujo del polvo y seleccionar un tamaño de partícula apropiado, y se realizaron pruebas de contenido de humedad ya que este es un factor importante en la fabricación de cápsulas.

Posteriormente se hizo la formulación de la mezcla de los dos polvos en una cápsula de hidroxipropilmetilcelulosa, se seleccionaron los excipientes que no tuvieron interacción, evaluando mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido.

2. Marco teórico

2.1 Plantas Medicinales.

Las fuentes de nuevos fármacos son variadas, nuevas moléculas pueden ser sintéticas o de origen natural y pueden ser moléculas inorgánicas o compuestos purificados de plantas o animales. Los componentes naturales extraídos de plantas pueden contener moléculas para aplicaciones terapéuticas.^{1,2}

Una planta medicinal es cualquier vegetal que contenga, en cualquiera de sus órganos, alguna sustancia con actividad farmacológica que se pueda utilizar con fines terapéuticos o que se puede emplear como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis farmacéutica. Los procesos de estandarización permiten cuantificar la cantidad de principio activo uniforme y tener constancia en esos resultados. Los principios activos extraídos de plantas son una buena opción terapéutica en el área de salud.^{2,3,4}

México es uno de los países con más biodiversidad en el planeta, con más de 20000 especies endémicas, de las cuales entre 66 y 102 especies han sido domesticadas, incluyendo sus diferentes variedades, una de estas plantas es el chayote, originario del centro de América.⁵ En los últimos años las investigaciones sobre chayotes han ido aumentando ya que recientemente se descubrió que esta especie tiene actividad antineoplásica.

2.1.1 *Sechium edule*.

“Chayote” es el nombre en nahúatl usado en muchas partes de Latinoamérica para las especies cultivadas de *Sechium edule*.⁶

El chayote es originario de América central, donde México es el lugar de mayor biodiversidad, principalmente en Veracruz, Chiapas y Oaxaca.⁶ La fruta es carnosa, de forma y tamaño variable con una sola semilla ovoide y comprimida, que generalmente germina dentro de la misma.⁷ Se han hecho trabajos de caracterización por el GISeM (Grupo Interdisciplinario de Investigación de *Sechium edule* en México) y *S. edule* presenta un amplio rango de tipos biológicos, incluyendo variedades de uso común y las obtenidas por mejoramiento, como: *nigrum xalapensis*, *amarus silvestrys*, *albus levis*, *albus dulcis*, *albus minor*, *nigrum máxima*, *nigrum minor*, *nigrum levis*, *virens levis*, *nigrum spinosum*, *albus spinosum* y *nigrum conus*.^{8,9}

Según la UPOV (La Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales) una variedad vegetal representa a un grupo de plantas definido que tiene características comunes y se considera homogénea si sus caracteres esenciales se mantienen inalteradas de generación en generación al final de un ciclo particular de reproducciones, multiplicaciones o propagaciones.⁸

Las variedades registradas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales a partir de 2005 se muestran en la Tabla 1.⁸

Tabla 1. Grupo de variedades de chayote (*Sechium edule*) registradas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV) del SNICS.¹⁰

Grupo Varietal	Denominación	Origen	Registro Legal
<i>nigrum xalapensis</i>	NEJALPA®	México	1917/CHT-008-101109
<i>albus levis</i>	MALUCA®	México	1918/CHT-007-101109
<i>albus dulcis</i>	CAMBRAY®	México	1919/CHT-004-101109
<i>albus minor</i>	LUCPO®	México	1920/CHT-006-101109
<i>nigrum levis</i>	BHEZCO®	México	1921/CHT-002-101109
<i>nigrum máxima</i>	CALDERO®	México	1922/CHT-003-101109
<i>nigrum minor</i>	ROCA®	México	1923/CHT-009-101109
<i>nigrum spinosum</i>	VICIS®	México	1924/CHT-010-101109
<i>virens levis</i>	BERNYANO®	México	1925/CHT-001-101109
<i>nigrum conus</i>	CHAAVI®	México	1926/CHT-005-101109

Se ha reportado que *Sechium edule* posee algunas propiedades farmacológicas como actividad antioxidante, antimicrobiana, antihipertensiva, antimutagénica y anticancerígena, puede actuar como inhibidor de la tripsina y actividad

hipocalémica.⁷ Los efectos farmacológicos conocidos de *Sechium edule*, así como la fuente de información se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Efectos farmacológicos de *Sechium edule*.⁸

Tipo de extracto	Efecto	Fuente
Extracto metanólico	Antiinflamatorio Cardiotónico	Salama <i>et al.</i> , 1986
β -sitosterol- β -D-glucopiranosidoestigmasterol- β -D-glucopiranosido	Antiinflamatorio	Salama <i>et al.</i> , 1987
Proteína “sechiumina” de extracto acuoso de semilla	Inactivación ribosomal Agente quimioterapéutico	Wu <i>et al.</i> , 1998
Extractos metanólico y acuoso	Antioxidante	Ordoñez <i>et al.</i> 2006
Extractos crudos de ocho tipos biológicos	Antiproliferativo sobre L-929 Y P-388	Cadena-Iñiguez <i>et al.</i> , 2007

Los antecedentes indican que los extractos acuosos y metanólicos tienen propiedades antimutagénicas, antioxidantes y antiinflamatorias, se desconocía si los extractos mostraban efectos antiproliferativos y efectos citotóxicos. En un trabajo

se demostró que los extractos de *S. edule* exhibieron propiedades anticancerígenas. Se realizaron ensayos dosis-respuesta con células tumorales L929 (fibrosarcoma de ratón) y HeLa (carcinoma de cérvix humano). Los extractos metanólicos y etanólicos inhiben la proliferación en ambas células tumorales a través de un efecto citotóxico.^{11, 12}

El extracto metanólico tiene especificidad al inhibir células tumorales, pero no células normales. *Sechium edule* perla negra, es un nuevo genotipo obtenido al cruzar interespecíficamente a *S. edule nigrum minor* y *S. edule amarus silvestrys* fuente de medicina complementaria.^{9, 12, 13}

Se han caracterizado químicamente variedades de *S. edule* para identificar la diversidad de metabolitos y principalmente contiene triterpenos. De acuerdo con pruebas realizadas por GISeM, al menos 90% de las variedades tienen actividad antineoplásica en fibrosarcosma de pulmón de ratón, leucemia y cáncer cérvico-uterino, específicamente en la línea celular humana HeLa. De los triterpenos identificados se tiene a las cucurbitacinas.¹¹

2.2. Cucurbitacinas

Las cucurbitacinas son un grupo de sustancias vegetales de sabor amargo altamente oxigenadas, principalmente tetracíclicas y triterpénicas, de esqueleto del cucurbitano. No pueden ser considerados como esteroideos puesto que el metilo del C10 se ha movido al C9. Las cucurbitacinas se encuentran principalmente en la familia cucurbitaceae, pero también están presentes en otras familias del reino vegetal.⁵

Cadena-Iñiguez reporta que la composición de la fruta de ocho variedades de *S. edule* de los sólidos solubles totales contiene ácido ascórbico y cucurbitacinas, éstas últimas están tienen una concentración 100 veces menor en las variedades de frutas amarillas que las silvestres y tiene una concentración 10 veces menor que las variedades cultivadas de frutos verdes.⁵

Las cucurbitacinas tienen una fuerte acción citotóxica y antitumoral y se han hecho varios estudios en un intento de demostrar su posible actividad anticarcinogénica, por lo tanto, son sustancias de potencial desconocido. La cucurbitacina B, isocucurbitacina B y las especies de plantas en las cuales se encuentran han demostrado ser fuertemente citotóxicas cuando se prueban en cultivos celulares KB provenientes de carcinomas humanos nasofaríngeos. La cantidad de cucurbitacinas obtenida a partir de los extractos de algunas variedades de *Sechium edule* se muestran en la Tabla 3 y en la Tabla 4 se muestran las propiedades químicas de éstas. En el cáncer cérvico uterino el extracto metanólico de *n. spinosum* mostró una actividad citotóxica a bajas dosis.⁵

Se ha demostrado que el extracto híbrido de *Sechium edule* denominado "H-387-07-GISeM (resultado de la cruce entre las variedades *virens levis*, *amarus silvestres* y *nigrum spinosum*) tiene actividad terapéutica antineoplásica mayor que los extractos de otras especies del género *Sechium*; además de que produce el efecto terapéutico antineoplásico no presenta efectos colaterales.^{14,15}

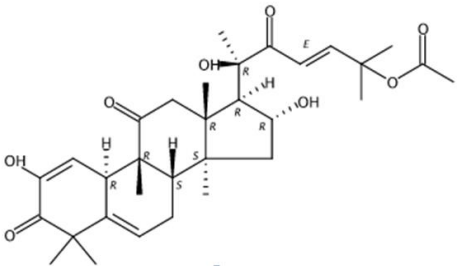
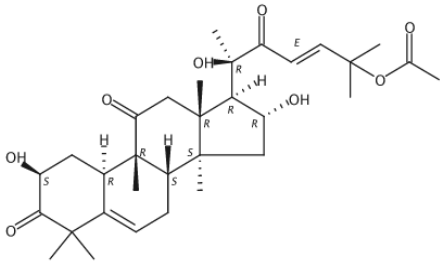
Tabla 3. Contenido relativo de cucurbitacinas, sólidos solubles totales y ácido ascórbico en ocho variedades de frutos de *S. edule*.¹⁴

Variedad	Cucurbitacinas g 100 g⁻¹	TSC^{1°} Brix ²	Ácido ascórbico³ mg 100 g⁻¹
<i>virens levis</i>	0.0116	5.14 ± 0.2	6.76 ± 0.16
<i>nigrum xalapensis</i>	0.0195	4.93 ± 0.2	6.53 ± 0.53
<i>nigrum spinosum</i>	0.0190	6.43 ± 0.3	4.95 ± 0.49
<i>nigrum levis</i>	0.0660	5.47 ± 0.2	6.65 ± 0.18
<i>amarus silvestrys</i>	0.1456	10.92 ± 0.3	3.99 ± 0.16
<i>albus minor</i>	0.0039	7.66 ± 0.7	7.82 ± 0.42
<i>albus dulcis</i>	0.0027	7.21 ± 0.9	7.42 ± 1.27
<i>albus levis</i>	0.0088	8.08 ± 0.6	7.75 ± 0.22

¹ Contenido soluble total²: media de 196 determinaciones ± error estándar.

³ Media de 380 determinaciones ± error estándar.

Tabla 4. Propiedades químicas de cucurbitacina E y Cucurbitacina B

CUCURBITACINA E	CUCURBITACINA B
	
<p>Propiedades químicas:</p> <p>Peso molecular: 556.69.</p> <p>Punto de fusión (experimental): 230 °C.</p> <p>Punto de ebullición (esperado): 712.6 ± 60.0 °C / Presión: 760 Torr.</p> <p>Densidad (esperado): 1.24 ± 0.1 g/mL / Condiciones: Temperatura 20 °C; Presión 760 Torr.</p> <p>pka (esperado): 8.51 ± 0.7 / Condición: Temperatura de mayor acidez 25 °C.</p> <p>16, 17</p>	<p>Propiedades químicas:</p> <p>Peso Molecular: 558.70</p> <p>Punto de fusión (experimental): 184 - 186 °C.</p> <p>Punto de ebullición (esperado): 699.3 ± 55.0 °C / Presión: 760 Torr.</p> <p>Densidad (esperado): 1.23 ± 0.1 g/mL / Condiciones: Temperatura 20 °C; Presión 760 Torr.</p> <p>pka (esperado): 12.6 ± 0.29 / Condición: Temperatura de mayor acidez 25 °C. 16, 17</p>

Una vez que se ha descubierto que alguna planta tiene algún efecto terapéutico es posible crear con ella un medicamento que debe cumplir con controles de calidad.

La mayoría de los fármacos se comercializan en tabletas o cápsulas, pero antes de proceder a desarrollar cualquier presentación es necesario investigar primero las propiedades físicas y químicas del compuesto, ya que de esto dependen los pasos y métodos utilizados para desarrollar el mismo, este paso se conoce como preformulación. ^{18, 19}

2.3 Preformulación

Los estudios de desarrollo de fármacos incluyen estudios preclínicos, estudios de sus propiedades fisicoquímicas y son probados en modelos animales para toxicidad y actividad. Cuando un fármaco es candidato sigue una línea de desarrollo de la siguiente manera:

1. Nueva entidad molecular: Puede ser de diferentes fuentes, extracción de plantas, síntesis orgánica, animales o ingeniería genética.
2. Estudios preclínicos: Propiedades fisicoquímicas, seguridad y bioactividad (*in vitro*, *in vivo*), preformulación.
3. Solicitud del nuevo fármaco en investigación: propuestas y revisión.
4. Desarrollo clínico: Fase I, Fase II, Fase III. Y desarrollo farmacéutico: formulación del producto, toxicidad, escalamiento y manufactura, empaque y diseño de la etiqueta.
5. Presentación del nuevo fármaco: propuestas y revisión.

6. Aprobación y vigilancia: Fase IV, reporte de reacción adversa, inspección y reporte de defectos del producto. ¹

La preformulación es la caracterización fisicoquímica de las propiedades sólidas y en solución de un fármaco. Las pruebas de preformulación abarcan todos los estudios realizados en un nuevo fármaco con el fin de tener información útil para hacer una posterior formulación en una forma farmacéutica que sea estable y biofarmacéuticamente adecuada.^{19, 20}

Los estudios de preformulación van a depender del conocimiento que se tenga del fármaco que se esté utilizando, del equipo y los reactivos que se tengan disponibles, así como de las reglas y restricciones de cada laboratorio, ya que algunos llevan a cabo estudios detallados y otros realizan una cantidad mínima de trabajo para poder desarrollar formulaciones tan rápido como sea posible. En las ciencias farmacéuticas, la química analítica y el desarrollo de procesos son muy importantes en los estudios de preformulación.^{19, 20}

Algunos aspectos que se deben considerar son la disponibilidad y la farmacología del mismo, así como las características fisicoquímicas, la facilidad de hacer el proceso a escala, la viabilidad de los métodos analíticos y la forma farmacéutica que se vaya a emplear, así como la dosis.¹⁹

En la Tabla 5 se muestra una lista de las pruebas recomendadas durante la etapa de preformulación.

Tabla 5. Caracterización de un fármaco mediante la preformulación. ¹⁸

Prueba	Método/función/caracterización
Espectroscopía	Ensayo simple con UV
Solubilidad	Solubilidad de fases, pureza
Acuosa	Solubilidad intrínseca, efectos del pH
pka	Control de solubilidad, formación de sales
Sales	Solubilidad, higroscopicidad, estabilidad
Disolventes	Vehículos, extracción
Coeficiente de reparto	Lipofilia, actividad de la estructura
Disolución	
Punto de fusión	Calorimetría diferencial de barrido: polimorfismo, hidratos, solvatos
Desarrollo de la valoración	UV, Cromatografía en Capa Fina, Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
Estabilidad (en solución y en estado sólido)	Térmica, hidrólisis, oxidación, fotólisis, iones metálicos, pH
Microscopía	Morfología, tamaño de las partículas

Tabla 5 (continuación). Caracterización de un fármaco mediante la preformulación.¹⁸

Flujo del polvo Densidad Ángulo de reposo	Presentación en tabletas y cápsulas
Propiedades de compresión	Formación de tabletas y cápsulas
Compatibilidad con el excipiente	Elección del excipiente

Tener información de la estabilidad química y física de un fármaco en estado sólido y líquido es importante en el desarrollo de nuevos fármacos, porque a largo plazo dará conocimiento acerca de la vida útil del producto. Es importante también porque a partir de esta información se pueden seleccionar las condiciones de trabajo y los excipientes para tener una buena formulación.^{19, 20}

2.3.1 Investigaciones de estabilidad inicial

Diferentes pruebas son utilizadas para darse una idea de la estabilidad de un fármaco y se utilizan diferentes condiciones de temperatura, pH, luz y oxígeno. La finalidad de los estudios de estabilidad es identificar las condiciones en las que el compuesto es estable e identificar sus principales vías de degradación. En solución las principales vías son la hidrólisis, la oxidación y la fotodegradación.^{19, 20}

2.3.2 Estabilidad en solución

Hidrólisis: La degradación por hidrólisis es afectada por diferentes factores como el pH, las soluciones amortiguadoras, el uso de sales y la fuerza iónica, así como la presencia de cosolventes y tensoactivos.

Oxidación: La oxidación tiene lugar por la presencia de oxígeno y la reacción puede comenzar por la acción del calor, la luz o trazas de iones metálicos. Para saber si un compuesto es susceptible a la oxidación, basta con hacer pasar burbujas de aire a través de la solución o agregar peróxido de hidrógeno.^{19,21}

2.3.3 Estabilidad en estado sólido.

Fotoestabilidad: La inestabilidad a la luz puede presentarse tanto en estado sólido como en solución. La información obtenida en el estudio servirá para saber si las formulaciones deben diseñarse para proteger al compuesto de la luz, así como la selección adecuada del envase. También servirá para saber si se necesitan medidas especiales para la fabricación.^{19, 21}

Higroscopicidad: Muchos compuestos son sensibles al vapor de agua o humedad. Cuando los compuestos están en contacto con la humedad retienen agua en su superficie o la absorben, en casos extremos se puede presentar la deliquesencia. La humedad es un factor que puede afectar de manera importante tanto a los fármacos como a los excipientes, ya que puede provocar hidrólisis. Algunas propiedades que pueden verse afectadas por la humedad son el flujo del polvo, la compactación y la velocidad de disolución.^{19, 20,21}

Una formulación exitosa depende de la selección de excipientes para una fácil administración, una modificación en la liberación, una buena biodisponibilidad o la protección del principio activo o compuesto, para ello se puede utilizar análisis térmico para predecir las interacciones fisicoquímicas entre los componentes de una formulación y por lo tanto se puede usar el método para seleccionar los excipientes apropiados y compatibles químicamente.^{1, 18,}

2.4 Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).

Es un método sensible para estudiar las propiedades térmicas de las moléculas, se utiliza principalmente para determinar las energías de las transiciones de fase y cambios conformacionales, y permite la cuantificación de su dependencia a la temperatura. Se utiliza en estudios de excipientes y fármacos.^{22, 23}

La calorimetría diferencial de barrido se utiliza para medir el calor específico de eventos térmicamente inducidos como una función de temperatura.^{22, 24}

La transición se reconoce como un pico endotérmico centrado en la temperatura de fusión y el máximo en el calor específico se da en la temperatura de fusión. La integración del calor específico contra la curva de temperatura da como resultado la entalpía de transición y el cambio en la línea base proporciona el calor específico. La calorimetría diferencial de barrido es el único método para la determinación directa de la entalpía de transición.^{22, 25}

Los instrumentos térmicos tienen como finalidad registrar la diferencia entre el cambio de entalpía que ocurre en la muestra y un material inerte de referencia cuando ambos se calientan. Los datos se presentan en un gráfico de diferencia de

temperatura en función del tiempo de calentamiento. La muestra y la referencia se calientan de forma independiente, por lo que se puede medir directamente la diferencia en el flujo de calor para mantener una temperatura igual en ambas. Los datos se obtienen en forma de entradas diferenciales (dH/dt) en función de la temperatura, esto permite obtener temperatura y entalpías de transición o de reacción. Muchos de los sistemas utilizan un portamuestras de aluminio. La calibración del instrumento se hace con un metal de alta pureza con entalpía y punto de fusión conocidos, el metal generalmente usado es el Indio, con una entalpía de fusión de 28.55 J/g y un punto de fusión de 429.8 K.^{22, 23, 26}

2.4.1 Técnicas de análisis térmico

Existen dos técnicas que suelen utilizarse juntas, ya que pueden explicar los mismos fenómenos:

Análisis térmico diferencial (DTA): es una técnica que mide la diferencia de la temperatura entre una muestra y un material de referencia, se registra contra el tiempo o la temperatura mientras la temperatura de la muestra en una atmósfera controlada se programa. La curva generalmente es una gráfica de la diferencia en la temperatura (ΔT) como la ordenada, contra la temperatura T (u ocasionalmente, tiempo) como la abscisa. Un evento endotérmico muestra un pico hacia abajo.^{22, 27}

Calorimetría diferencial de barrido: es una técnica en la que la diferencia en el flujo de calor (poder) hacia una muestra (crisol) y hacia una referencia (crisol) se monitorea contra el tiempo o la temperatura mientras la temperatura de la muestra, en una atmósfera específica, se programa. En la práctica el calor se suministra hacia

la muestra contenida en el crisol y de forma similar a la muestra en su crisol. Se reconocen dos tipos de calorimetría diferencial de barrido:

Calorimetría diferencial de barrido de compensación de poder: donde la muestra y la referencia se calientan por separado con calentadores individuales y la diferencia de temperatura se mantiene cercana a cero, mientras se mide la diferencia en poder eléctrico necesaria para mantener las temperaturas iguales.^{22, 28}

Calorimetría diferencial de barrido de flujo de calor: donde la muestra y la referencia se calientan con la misma fuente y la diferencia de temperatura ΔT se mide, esta señal se convierte a una diferencia de poder ΔP utilizando la sensibilidad calorimétrica.^{27, 28}

En la Figura 1 se muestra el diagrama de un calorímetro. Las partes principales del equipo son:

- Sensores con amplificador
- Fuente de calor y sensor de temperatura:
- Computadora
- Graficador o aparato de obtención de datos.^{27, 28}

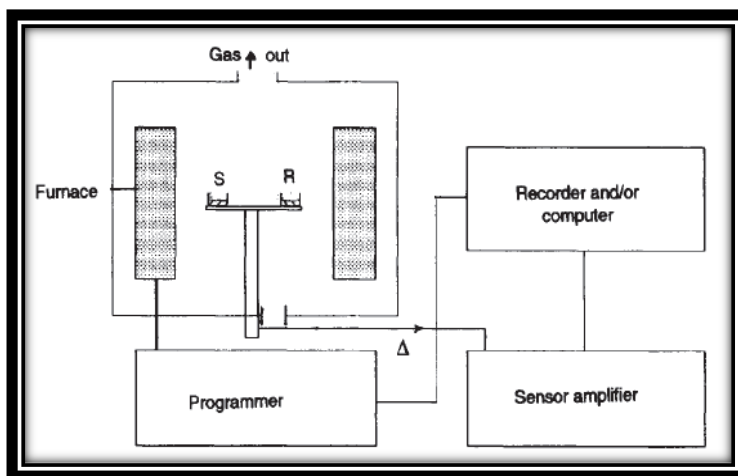


Figura 1: Diagrama de un calorímetro.^{27,28}

Los resultados se pueden ver afectados por la atmósfera alrededor de la muestra, el mecanismo que controla la reacción y las características del material de muestra.^{27, 29}

2.4.2 Aplicaciones

Cambios físicos y mediciones: punto de fusión, cambios de fases cristalinas, cambios en estados líquidos y líquidos cristalinos en polímeros, diagramas de fase, capacidad calorífica, interacción fármaco-excipiente, transiciones de cristal, conductividad, difusividad y emisividad térmica.^{23, 29}

Reacciones térmicas: deshidrataciones, descomposiciones, curado de polímeros, formación de cristal y ataque oxidativo.

Interacción fármaco – excipiente: esto se refiere a que dos o más componentes de una forma farmacéutica pueden coexistir sin ninguna interacción durante la vida de anaquel de la preparación. La formulación a veces contiene el componente activo (el placebo no contiene el componente activo) junto con otros excipientes para diluir,

unir o dispersar el fármaco; si hay interacción física o química, entonces las propiedades farmacéuticas se ven afectadas. Cualquier cambio o nueva característica indica interacción. Las reacciones químicas y algunos cambios físicos como la cristalización ocurren a una velocidad dependiente de la temperatura. Las reacciones de materiales orgánicos y de materiales poliméricos tanto naturales como sintéticos se pueden estudiar con CDB y DTA. Los efectos de la atmósfera son importantes ya que la degradación oxidativa se puede dar por diferentes mecanismos.^{23, 27} La estabilidad depende de la compatibilidad de los componentes activos con los excipientes. Es importante que se detecten interacciones, ya que muchas interacciones cambian la biodisponibilidad y estabilidad de un producto. Los excipientes pueden afectar la estabilidad de un fármaco en estado sólido de varias formas, por ejemplo, la interacción entre excipientes y fármaco o indirectamente por absorción de humedad.^{22,29,30}

Para dar seguimiento de la calidad de las cápsulas se utilizan técnicas como la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, ya que permite la separación de mezclas para poder identificar y cuantificar componentes individuales, generalmente se utiliza una sustancia de referencia.³¹ Al tratarse de una planta que contiene muchos tipos de moléculas, se utilizará un marcador específico. Las cucurbitacinas se encuentran en el chayote y se pueden cuantificar con el método analítico de cromatografía de líquidos de alta resolución.^{13, 22}

2.5 Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos menciona que la cromatografía es una técnica desarrollada a principios del siglo XX, que permite la separación de

sustancias que se encuentran en una mezcla, se trata de un proceso de migración en el cual los componentes de una mezcla son transportados en una fase móvil como un gas o un líquido y posteriormente son retenidos en una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido. La cromatografía de líquidos de alta resolución es el resultado de la distribución de una mezcla entre la fase estacionaria y la fase móvil. Los componentes se separan en una columna y al salir de ésta se conducen por la fase móvil en el orden que emergieron, hacia un detector donde se registra una respuesta proporcional a la concentración y sus tiempos de retención en la columna. El cromatograma que resulta muestra cada compuesto en forma de picos simétricos con un tiempo de retención característico, por lo que se puede emplear para identificar compuestos. El tiempo de retención se mide desde el momento de la inyección de la muestra hasta el momento en que aparece un pico máximo en el cromatograma. ^{31,32}

La técnica de HPLC es comúnmente utilizada en estudios de preformulación y formulación. Es una técnica sensible, eficaz, fiable y relativamente rápida. Se utiliza HPLC para evaluar la degradación de un compuesto en estado sólido o en solución, de esta forma, con ayuda de otras técnicas como la espectroscopía de masas es posible conocer la cinética de degradación y el mecanismo de degradación. ^{19, 32}

Se debe tener en cuenta la finalidad del método, si, por ejemplo, se requiere un análisis para conocer la solubilidad de un compuesto, un método en "crudo" es aceptable. Si lo que se desea hacer es separar o determinar sustancias relacionadas al compuesto como los productos intermedios o productos de degradación se debe desarrollar un método más específico. Algunas otras

consideraciones que se deben tomar en cuenta es la cantidad del compuesto en la matriz, es decir la formulación, así como la rapidez con la que se realizan los análisis.^{19, 32}

Si el compuesto se detecta con facilidad y tiene concentraciones elevadas en la matriz, generalmente se utiliza un análisis isocrático por su sencillez. Si se quiere separar productos de degradación, excipientes o productos intermedios es posible utilizar un análisis por gradiente, éste ofrece la ventaja de mostrar picos más definidos, es decir que tiene mejor resolución, pero tiene la desventaja de que puede requerir un tiempo de análisis más prolongado.¹⁹

Dado que los compuestos más comunes de interés farmacéutico tienen anillos aromáticos, es común utilizar la detección por UV. Generalmente se realizan barridos para conocer la longitud de onda máxima del estándar y esta será la más apropiada para trabajar. Es común elegir la longitud de onda máxima, sin embargo, si existe interferencia no deseada puede ser necesario alejarse de ese valor. Se recomienda usar longitudes de onda < 250 nm para evitar el ruido de fondo y la absorción por el disolvente.¹⁹

2.6 Medicamento Herbolario

En el artículo 224 Según la Ley General de Salud, se menciona que los medicamentos clasificados como herbolarios son aquellos productos elaborados con material vegetal o algún derivado de éste, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extractos y tinturas, así como jugos, resinas, aceites grasos y esenciales, presentados en forma farmacéutica, cuya eficacia

terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura nacional o internacional.³³

En el Reglamento de Insumos para la salud, los artículos 66, 67 y 68 mencionan que los medicamentos herbolarios, además de contener material vegetal, podrán adicionar en su formulación excipientes y aditivos. No se consideran medicamentos herbolarios aquéllos que estén asociados a principios activos aislados y químicamente definidos, ni aquéllos propuestos como inyectables y que en la formulación de un medicamento herbolario no podrán incluirse sustancias estupefacientes o las psicotrópicas de origen sintético, ni las mezclas con medicamentos alopáticos, procaína, efedrina, yohimbina, chaparral, germanio, hormonas animales o humanas u otras sustancias que contengan actividad hormonal o antihormonal o cualquier otra que represente riesgo para la salud.^{2, 34}

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos define una forma farmacéutica como la disposición física que se le da a los fármacos y aditivos para constituir un medicamento y facilitar su dosificación y administración.^{2, 35, 36}

2.7 Formas Farmacéuticas

La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos menciona que existen diferentes formas farmacéuticas, dentro de las cuales se incluyen tinturas y extractos, algunos triturados que se obtienen por fragmentación o troceado de plantas que se utilizan para tisanas, para encapsulación o compresión y usualmente se administran vía oral.³¹

Las formas farmacéuticas más utilizadas para la administración de medicamentos son las tabletas y las cápsulas debido a que son sencillas, seguras y cómodas, algunas de las ventajas son que tienen gran estabilidad física, química y biológica, así como exactitud en la dosis, se puede en buena medida controlar la liberación y son relativamente de bajo costo. ³⁷

2.7.1 Cápsulas

Una cápsula es un cuerpo hueco (pequeño receptáculo), obtenido por moldeo de gelatina, que puede ser de textura dura o blanda, dentro de la cual se dosifica el o los fármacos y aditivos en forma sólida (mezcla de polvos o microgránulos o líquida). Las cápsulas duras están constituidas por secciones que se unen posteriormente a su dosificación (se pueden volver a abrir con facilidad); las cápsulas blandas están constituidas por una sola sección y son selladas después de su dosificación (éstas no se abren después de haber sido selladas). Ambas se fabrican en varios tamaños y formas. Se administran de forma oral o vaginal, pueden ser de liberación prolongada o de liberación retardada. ^{32 20, 37}

Las cápsulas pueden tener las siguientes ventajas:

- Protegen al fármaco de agentes externos como el polvo, el aire, la luz, etc.
- Presentan resistencia física.
- Enmascaran características organolépticas desagradables.
- Se identifican fácilmente mediante una adecuada selección de colores.
- Las cápsulas rígidas presentan una composición y elaboración sencilla.

- Tienen un número reducido de excipientes lo que facilita el control de posibles incompatibilidades.
- Proporcionan estabilidad al fármaco ya que la ausencia de agua en su etapa de elaboración permite la incorporación de sustancias, previa granulación o microencapsulación.
- Presentan buenas características de biodisponibilidad ya que la cubierta se disuelve o digiere rápidamente en el estómago.^{37, 38}

Las cápsulas también pueden tener las siguientes desventajas:

- Dificultades a la hora de conseguir una uniformidad de peso.
- Se necesitan garantizar condiciones adecuadas de temperatura y humedad.
- No pueden fraccionarse ni ser utilizadas por pacientes con problemas de deglución.^{37, 38}

2.7.1.1 Elaboración de cápsulas

Los materiales utilizados en las cápsulas duras incluyen una solución de gelatina en agua desmineralizada a la que se añade glicerol, u otro plastificante.²⁴ En la Tabla 6 se enlistan los materiales para la elaboración de cápsulas, así como una pequeña descripción de cada uno.

Tabla 6. Materiales utilizados para la elaboración de cápsulas.³⁷

Gelatina	Es un producto que se obtiene por hidrólisis de colágeno.
Plastificantes	Las cápsulas rígidas contienen menos de un 5% de plastificante. El glicerol es el más utilizado en la actualidad aunque existen otros como los policalcoholes, gomas naturales y azúcares.
Colorantes	Los colores se adicionan a la gelatina en la mayoría de los casos para conseguir un efecto opacificante de la cubierta.
Conservadores	Los conservadores se añaden a la gelatina durante la solubilización para prevenir el crecimiento bacteriano y fúngico los más usados son el dióxido de azufre, ácido parahidroxibenzico, ácido benzoico, ácido propiónico ácido sórbico y algunas de sus sales sódicas.

Tabla 6 (continuación). Materiales utilizados para la elaboración de cápsulas.³⁷

<p>Humectantes</p>	<p>Favorece la aplicación de la masa de la cubierta sobre los moldes utilizados para su formación y facilitan la humectación y disgregación de la cápsula una vez administrada en el estómago. El agente tensoactivo más utilizado es el laurilsulfato sódico.</p>
<p>Materiales gastrorresistentes</p>	<p>Pueden ser utilizados derivados de celulosa y copolímeros acrílicos que mezclados con la gelatina permiten obtener una cubierta entérica.^{1,37}</p>

2.7.1.2 Cápsulas de gelatina dura.

Las cápsulas están constituidas por dos secciones cilíndricas redondeadas de un extremo. Una de ellas es de mayor longitud (cuerpo) donde se aloja el material de relleno y la parte más corta (tapa) actúa como cierre de la cápsula ajustando sobre el cuerpo para formar una unidad cerrada. La fabricación de los receptáculos está industrializada y se comercializan en 8 tamaños diferentes, siendo el 000 el mayor y el 5 el más pequeño, como se muestra en la Figura 2.^{37,38}





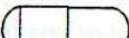
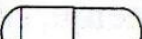
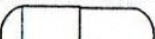
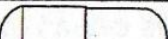
Nº	Tamaño real	Volumen (ml)
5		0,13
4		0,20
3		0,27
2		0,37
1		0,48
0		0,67
00		0,95
000		1,36

Figura 2. Tamaños y volúmenes de cápsulas de gelatina dura que existen en el mercado.³⁷

2.7.1.3 Fabricación

En la Figura 3 se observa un esquema de la fabricación de cápsulas. El proceso comprende las siguientes operaciones:

Preparación de la solución concentrada de gelatina (30 – 40% en peso) en agua desmineralizada a 60° - 70°.

La cápsula es formada por inmersión de la solución de gelatina mantenida a temperatura entre 45° y 55° C, en moldes de acero inoxidable.

El secado de la película es en estufas de desecación, en las que se inyecta directamente sobre ellas aire a temperaturas entre 22° a 28 °C y humedad controlada.^{21, 37, 38}

Extracción y ensamblado de los cuerpos y tapas secas.

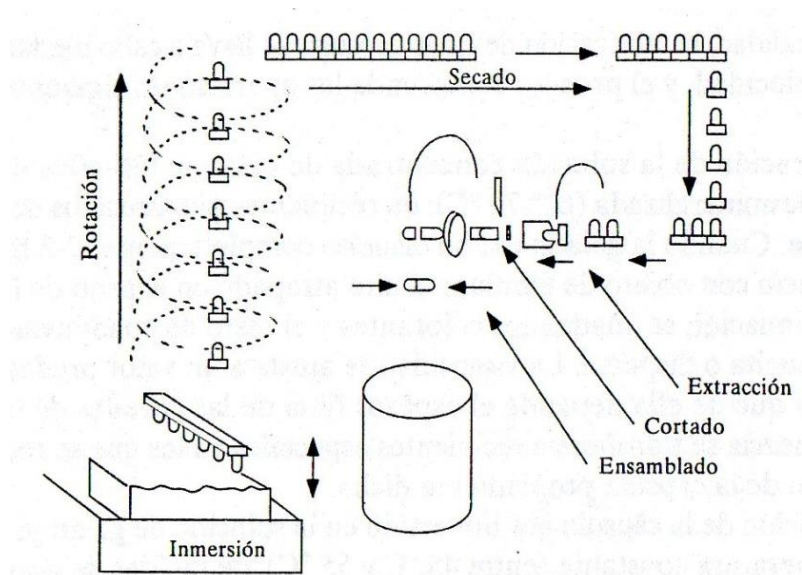


Figura 3. Secuencia de operaciones seguidas en la fabricación de cápsulas de gelatina dura.^{21, 37,39}

Otras operaciones complementarias incluyen la limpieza, abrillantado y en ocasiones la impresión de la cápsula con algún logotipo, nombre o cualquier símbolo para su identificación.³⁷

2.7.1.4 Material de relleno

Los tipos de material que pueden incorporarse son:

- Polvo
- Granulados

- Pellets
- Comprimidos
- Microcápsulas
- Pastas
- Combinaciones ¹

En la Figura 4 se puede observar un esquema de los diferentes tipos de materiales que pueden incorporarse a las cápsulas de gelatina dura.

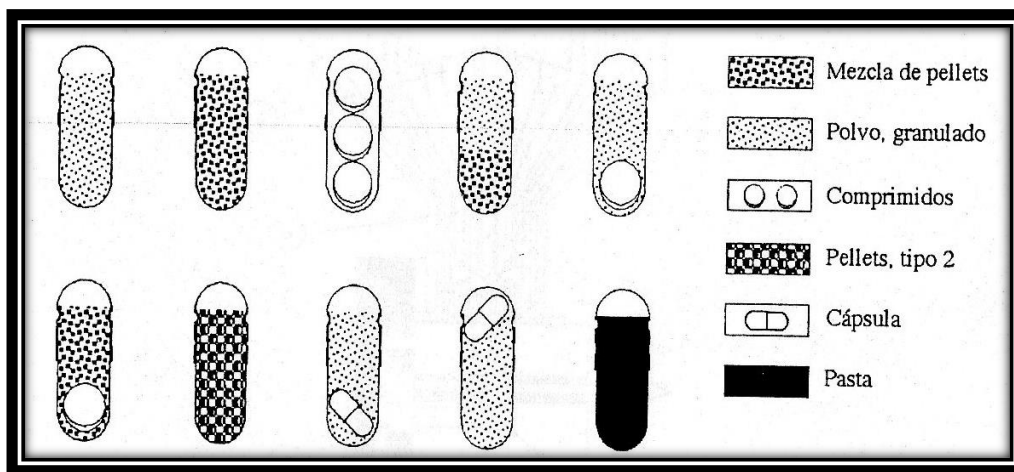


Figura 4. Tipos de materiales que pueden incorporarse a las cápsulas de gelatina dura. ^{21, 37}

Después de la ingestión de la cápsula, la gelatina se cubre de agua, se ablanda, se hincha y se disuelve en el tracto gastrointestinal. Los fármacos encapsulados son liberados rápidamente y se dispersan fácilmente, lo que lleva a una rápida absorción.¹

2.7.1.5 Llenado de las cápsulas

Se requiere la separación previa del cuerpo y la tapa para la incorporación del material de relleno. Puede ser de forma manual o usando máquinas automáticas de alta velocidad. La diferencia son los métodos para medir la dosis del material de relleno.^{21, 37}

Selección: Se debe conocer el volumen ocupado por la mezcla que se va a encapsular, su densidad aparente y el peso de la misma.

Conociendo los datos anteriores se pueden realizar cálculos y utilizar nomogramas que se han propuesto para ayudar a la selección del tamaño de la cápsula y si es necesario, la determinación del volumen de excipiente que se precisa para llenar aquella.^{37, 39}

El llenado puede ser:

Llenado Manual: En la Figura 5 se muestra un esquema de una encapsuladora manual, el proceso se realiza en pequeños lotes en equipos sencillos que generalmente se constituyen por un par de placas de plástico con perforaciones de diferentes diámetros adecuadas a los tamaños de las cápsulas. La uniformidad del llenado depende de las propiedades de flujo del material de relleno, en la Figura 6 se muestran los pasos que se siguen para el llenado manual de cápsulas.³⁷

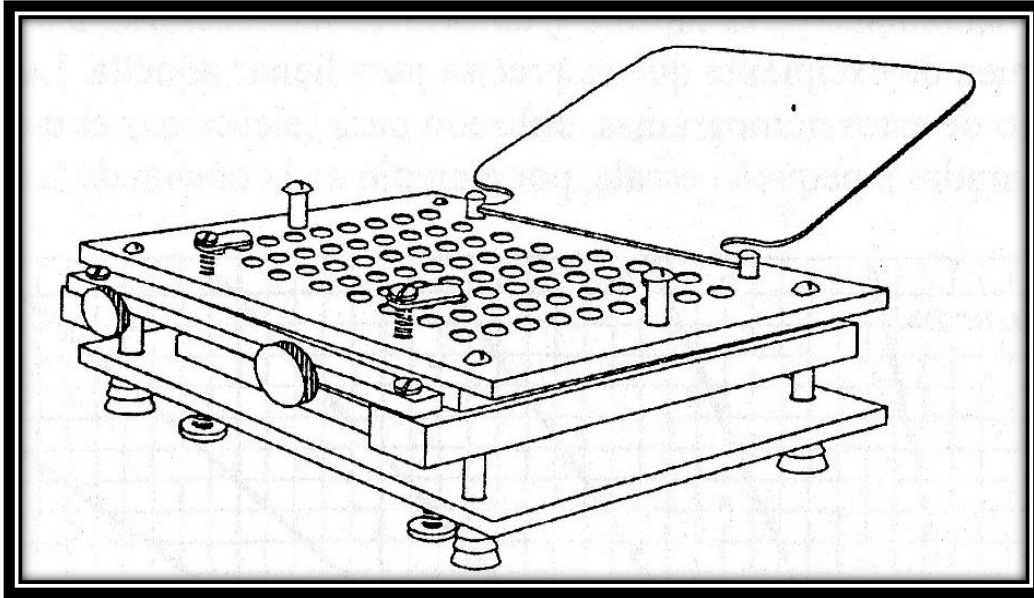


Figura 5 Esquema de una encapsuladora manual^{1, 37}

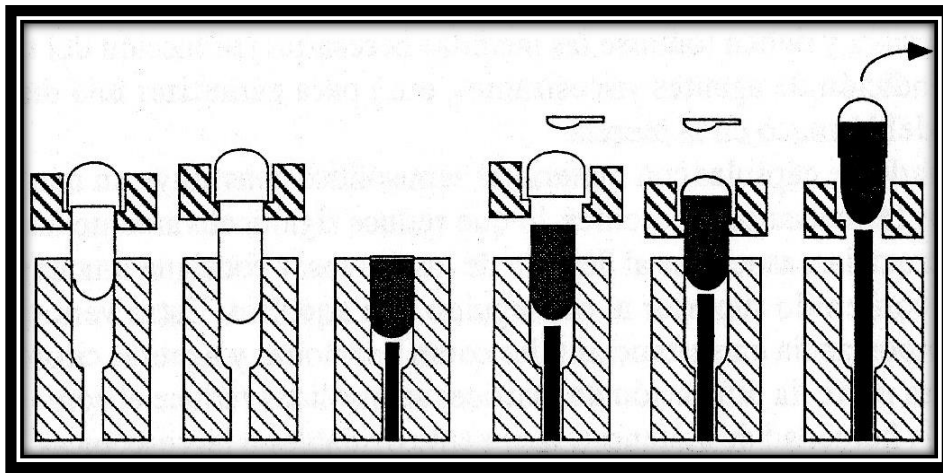


Figura 6. Pasos seguidos en el llenado manual de cápsulas rígidas.^{21, 37}

Llenado a escala industrial: Existe una gran variedad de equipos parcial o totalmente automatizado que permiten obtener entre 5000 a 150000 cápsulas por hora, la diferencia son los sistemas de dosificación del material.

En la Figura 7 se muestra un esquema del llenado de cápsulas a escala industrial.

El proceso de llenado conlleva a la realización de cuatro operaciones:

- Alimentación y rectificación de las cápsulas en el equipo.
- Separación del cuerpo y tapa.
- Llenado.
- Ensamblaje de cuerpo y tapa.

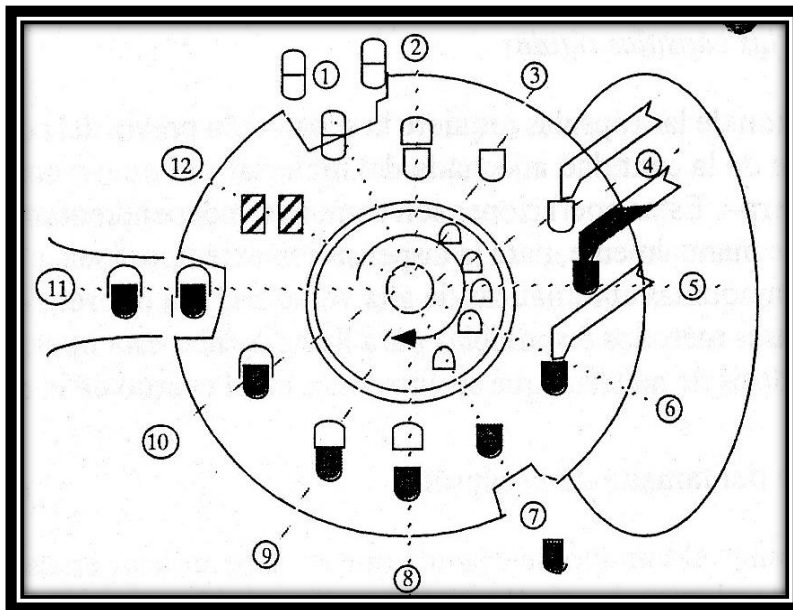


Figura 7. Llenado de cápsulas a escala industrial.^{37, 39}

2.7.1.6 Controles de calidad.

Las cápsulas deben cumplir con requerimientos exigidos en las monografías individuales de los productos que se encuentran en las farmacopeas que establecen los límites mínimos de aceptabilidad para garantizar su calidad. Las cápsulas deben de contener una cantidad uniforme de principio activo, deben ser estables y tener buena biodisponibilidad. Los ensayos más comunes e importantes se aplican a

todos los tipos de cápsulas y son la uniformidad de dosis, desintegración y disolución.^{37, 38}

Cada proceso está diseñado para producir un producto deseado a partir de diferentes materiales mediante una secuencia de pasos. Los procesos individuales se pueden dividir en pasos llamados “operaciones unitarias” y éstas aparecen proceso tras proceso.⁴⁰

2.8 Operaciones Unitarias

Se deben tener algunas consideraciones para la formulación de cápsulas, los requerimientos son menos estrictos que para la formulación de tabletas. Algunos de los requerimientos son los siguientes:

1. Flujo: el flujo debe ser adecuado a través de la tolva para un llenado uniforme
2. Densidad: La densidad es importante ya que las máquinas de llenado se llenan de acuerdo al volumen del polvo.
3. Lubricación: Los lubricantes evitan la adherencia del polvo a las partes metálicas de las máquinas de llenado.
4. Compactabilidad: Es necesario que el polvo tenga propiedades de compactabilidad para asegurar un llenado uniforme.
5. Dosificación: La dosis del principio activo influye en la uniformidad de contenido, las propiedades del polvo se ven afectadas por las propiedades fisicoquímicas del principio activo.

6. Tamaño de partícula, forma y densidad: El tamaño y la forma de las partículas influyen el flujo y la uniformidad del llenado. Las propiedades de densidad se pueden modificar mediante la adición de excipientes.
7. Humedad: La humedad puede afectar las propiedades físicas y la estabilidad de la cápsula, el relleno de las cápsulas no debería contener más el 5% de humedad.¹

Para cumplir con los requerimientos se utilizan las llamadas operaciones unitarias que tienen técnicas comunes y se basan en los mismos principios, la mayoría de los procesos se deben transportar a sólidos y fluidos, por ejemplo, el calor y la energía se transfieren de una sustancia a otra y se deben realizar operaciones como el secado, la reducción del tamaño de partícula o la evaporación.^{20, 40}

2.8.1 Reducción del tamaño de partícula

Se llama reducción de tamaño de partícula o trituración al proceso en el cual las partículas de un sólido se cortan o dividen en partículas más pequeñas. El proceso consiste en la aplicación de energía mecánica para crear una nueva superficie, lo que implica que el material molido tendrá mayores fuerzas electrostáticas y una tendencia a agregarse, así como el aumento de temperatura en el material particulado.^{21, 40}

El tamaño de partícula es importante, ya que puede afectar las características de la formulación y evidentemente la biodisponibilidad del fármaco, la reducción del tamaño de partícula aumenta el área superficial y por lo tanto aumenta la solubilidad. Es importante que el tamaño de partícula sea homogéneo durante los estudios para

poder tener una buena formulación y asegurar que cumplirá con los controles que marca la regulación.^{19, 21}

Existen varios métodos para disminuir el tamaño de partícula y generalmente se utilizan diferentes equipos para tal objetivo.

Métodos de corte: Una trituradora de corte consiste en cuchillas unidas a un rotor que actúan contra cuchillas fijas en las paredes. La reducción de tamaño de partícula se obtiene por la ruptura o fractura de las partículas entre dos series de cuchillas entre las que existe pocos espacios.

Métodos de compresión: La reducción de tamaño puede hacerse en pequeña escala utilizando un mortero. Los molinos de muelas y las fresadoras son ejemplos de reducción de tamaño de partícula por compresión. Ambos funcionan haciendo pasar el polvo por debajo de un pesado mango que rota.

Métodos de impacto: La reducción de tamaño se hace con una trituradora de martillo que consiste en una serie de martillos unidos a un eje que rota. En la base de la trituradora se coloca una malla que sólo permite el paso del tamaño de partícula que se desea.

Métodos de fricción: La reducción de tamaño de partícula se hace con una trituradora de rodillos. Se colocan dos o tres rodillos de porcelana o metal con diferente separación. Los rodillos rotan a diferentes velocidades y sufren cizallamiento.

Métodos de impacto y fricción combinados: El ejemplo más claro es el molino de bolas. Las trituradoras de bolas son cilindros huecos que pueden rotar sobre un eje.^{18, 21}

2.8.2 Separación por el tamaño de partículas

El objetivo de la separación es diferenciar los tamaños de las partículas por intervalos o cortes y encontrar un tamaño donde el polvo pueda ser manipulado para procesos posteriores.

La eficiencia con la que se puede separar un polvo en partículas de distintos tamaños depende de las propiedades del polvo, de las partículas, del flujo del polvo y del método utilizado para separar. En los procesos industriales la separación siempre es incompleta, ya que cierta cantidad del material de menor tamaño queda retenida en la corriente del tamaño mayor y viceversa.^{18, 21}

El método más utilizado es la separación por cribado:

Separación por cribado: consiste en la dimensión de la partícula que pasa a través de una apertura cuadrada. La International Organization for Standardization (ISO) establece que el diámetro de cribado debe ser $<45 \mu\text{m}$. El análisis se efectúa usando polvos secos generalmente. Para el análisis se utiliza una malla entretejida o agujerada usualmente es de acero inoxidable, acero o latón, con orificios de diámetro conocido que forman una berrera física para las partículas. La mayoría del cribado se hace con una serie de cribas, la malla de menor diámetro se sitúa por encima de una bandeja y siguen las mallas sucesivamente más gruesas hacia el extremo superior de la serie. El polvo se coloca en la criba más gruesa de la pila y

se someten a vibración mecánica o un movimiento oscilatorio inducido por electricidad. Se recomienda que los tiempos de cribado sean hasta que al menos el 0.2% del material atraviese el agujero de cribado específico en intervalos de 5 minutos.¹⁸

2.8.3 Secado

El proceso de secado de un sólido es aquel en el cual se eliminan cantidades pequeñas de agua o de algún disolvente para disminuir el contenido de líquido residual hasta un valor aceptable. Generalmente el secado se logra mediante la vaporización térmica. La diferencia entre los métodos de secado es la forma en que los sólidos se mueven en la zona de secado o la forma en la que el calor es transferido, algunos secadores son continuos y otros operan en lotes, algunos agitan los sólidos y otros son estáticos.^{20,40}

No todo líquido se puede extraer con facilidad. El agua que se extrae fácilmente se denomina contenido de humedad libre o agua libre.

Agua libre: El agua ejerce su presión de vapor completa y se puede extraer fácilmente por evaporación. El sólido no queda completamente libre de moléculas de agua y eso se conoce como “seco al aire”.

El polvo que se seca puede exponerse al calor diferentes formas, por ejemplo:

- El sólido es expuesto directamente a un gas caliente, generalmente aire.
- Los secadores son calentados por medio de energía eléctrica, energía radiante o microondas.

La mayoría de los secadores que se usan en la industria farmacéutica son de la primera categoría en donde los polvos son expuestos directamente al aire caliente. Estos secadores se conocen como adiabáticos o directos. Los diferentes secadores adiabáticos utilizados son secadores de bandejas, hornos de vacío y secadores de lecho fluido.⁴⁰

El relleno de las cápsulas no debería contener más del 5% de agua ya que puede ocasionar problemas con la estabilidad del producto.¹

2.8.4 Mezclado

Existe un número mínimo de productos farmacéuticos formados por un solo componente. En la mayoría de los casos es necesario el uso de excipientes para que la forma farmacéutica funcione de forma adecuada. Por lo tanto, el producto deberá someterse a una fase de mezclado.²⁶ El mezclado de un polvo seco es un paso importante ya que tiene impacto directamente en la uniformidad de dosis. Generalmente el mezclado es la aplicación de alguna fuerza rotatoria que crea un movimiento en las partículas. La finalidad del mezclado es asegurar la distribución del principio activo de manera uniforme.^{21, 40}

El mezclado entonces es una operación cuya finalidad es hacer que dos o más componentes inicialmente separados establezcan contacto lo más próximo posible con una unidad de los demás componentes.

Una mezcla perfecta de dos polvos es una en la que cualquier grupo de partículas tomadas desde cualquier posición dentro de una mezcla, tendrá la misma proporción de cada una de las partículas como se muestra en la Figura 8. En la

práctica con polvos a diferencia de los líquidos una mezcla perfecta no es alcanzable, sólo se puede lograr un grado máximo de aleatoriedad donde hay una misma probabilidad de encontrar un elemento de un componente en cualquier posición de la mezcla como se muestra en la Figura 9. Para determinar el grado de mezcla se debe hacer un muestreo en la mezcla estática. ^{19, 20, 21}

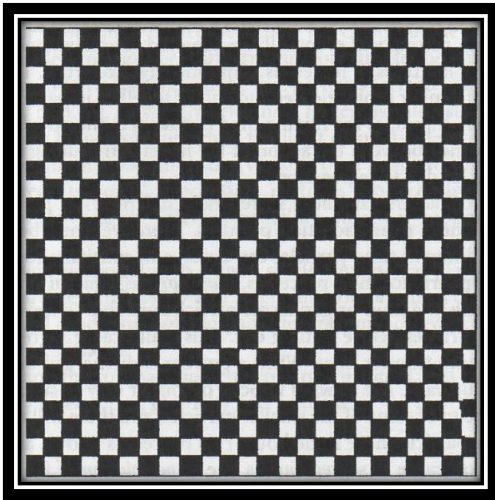


Figura 8. Mezcla perfecta ¹⁹

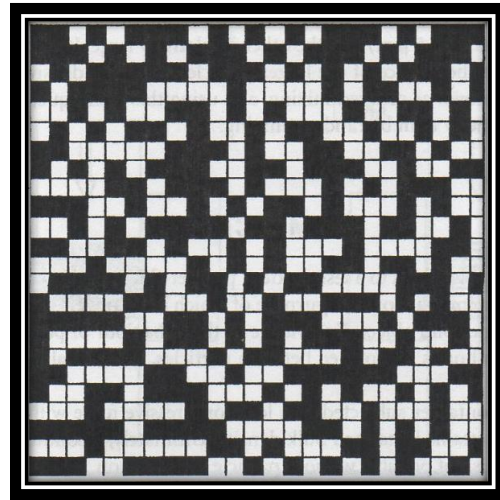


Figura 9. Mezcla aleatoria ¹⁹

Existen diferentes mecanismos por los cuales se puede realizar una mezcla de polvos.

Convección: Se hacen cuando hay una transferencia de partículas grandes de una parte del lecho del polvo a otra. Este tipo de mezcla contribuye al mezclado macroscópico de mezcla de polvos. Sin embargo, es necesario un tiempo de mezclado prolongado para poder obtener una mezcla aleatoria.

Deslizamiento: Se hace cuando una capa de material se mueve o fluye sobre otra capa. Sin embargo, para lograr una mezcla aleatoria es necesario que cada partícula se mueva de forma individual.

Difusión: Ocurre cuando un lecho de polvo es forzado a moverse, el volumen que ocupa el polvo aumenta. Eso se debe a que aumenta el espacio entre la partícula y provoca que exista un vacío entre ellas. En esas circunstancias hay posibilidad de que las partículas caigan por gravedad a medida que se crean los espacios. El resultado es una mezcla aleatoria y se hace a bajas velocidades de mezclado.^{18, 20}

2.9 Propiedades de las partículas

2.9.1 Adherencia y Cohesión

Las partículas tienen a juntarse entre sí y a otras superficies por la presencia de fuerzas moleculares.

Cohesión: ocurre entre superficies similares (partícula-partícula). Generalmente se dan por fuerzas de van der Waals, inespecíficas y de corto alcance, aumentan a medida que disminuye el tamaño de las partículas y se modifican por la presencia de humedad.

Adherencia: ocurre entre dos superficies distintas (partícula-tolva).^{1, 18}

Las propiedades del flujo son importantes para tener un llenado uniforme de las cápsulas y asegurar que se tenga una uniformidad de dosis, estas propiedades de flujo se obtienen mediante el estudio de pruebas reológicas.

Densidad aparente: Es la relación de la masa de una muestra de polvo sin asentar y su volumen y depende de la densidad de las partículas de polvo como la distribución espacial de las partículas en el lecho del polvo. Se expresa en gramos por mililitro.

Densidad compactada: Se obtiene después de golpear mecánicamente un recipiente de medición graduado que contiene la misma muestra de polvo utilizada en la prueba de densidad aparente, siendo su valor mayor a ésta última por la reducción del volumen la cual se obtiene por el asentamiento mecánico de la muestra del polvo.

Velocidad de flujo: es el desplazamiento de una cantidad de polvo por unidad de tiempo.

Ángulo de reposo. Aquel que corresponde al ángulo máximo formado entre la superficie de un cono de polvo y el plano horizontal.^{20, 21, 35}

La relación entre la densidad compactada y densidad aparente se llama, fracción de compactación

El índice Hausner es una medida sin dimensiones para describir las características del flujo de las partículas y se utiliza una relación entre la densidad aparente y la compactada.

El índice de compresibilidad es una medida del porcentaje de compresibilidad y sirve para conocer el flujo de las partículas.

El índice de compresibilidad y el índice de Hausner son medidas que expresan qué tan propenso es un polvo a la compresión.

Un polvo que fluye libremente tiene poca interacción entre sus partículas y la densidad aparente y la densidad compactada tendrán valores más cercanos.^{1, 31, 42}

Existen diversos factores que influyen sobre la compactación:

- Tamaño de partículas y distribución de tamaños
- Forma y textura de las partículas.
- Propiedades de superficie.
- Condiciones de manipulación.^{18, 21}

3. Planteamiento del Problema

Actualmente, el uso de medicina herbolaria se ha vuelto muy popular. Se estima que el 80% de la población mundial todavía utiliza medicamentos tradicionales mayormente con base en plantas, y se sabe que entre 40000 y 70000 especies de éstas tienen una o más aplicaciones terapéuticas. En general las plantas son baratas y disponibles.⁴¹ El Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México (GISeM) se ha encargado de realizar estudios con frutos y hojas de chayote, los cuales han revelado que tiene diversas actividades biológicas y farmacológicas, lo que lo convierte en un producto de interés farmacéutico y con ello para desarrollar medicamentos complementarios al tratamiento de cáncer.

Para algunos tipos de estos vegetales no se cuenta con información sobre sus propiedades, como el caso del polvo de *Sechium edule nigrum spinosum* var. amargo 290 y el polvo de *Sechium edule nigrum spinosum* var. dulce 354 para estos, aun cuando se tiene una identidad genética bien establecida y una actividad farmacológica definida, no existe una forma farmacéutica conocida y segura para ser administrados, ya que se sabe que podrían ayudar en la terapia de diversas enfermedades, siempre y cuando se asegure la calidad del producto que se administre bajo estrictos criterios farmacéuticos, desde el estudio de preformulación hasta obtener una formulación final.

4. Hipótesis

Se obtendrán cápsulas de una mezcla de polvos de *Sechium edule nigrum spinosum var. Dulce 354* y *Sechium edule nigrum spinosum var. Amargo 290*, con base en los estudios de preformulación y formulación previos, que cumplan con los criterios de calidad en el desarrollo de formas farmacéuticas.

5. Objetivo

Diseñar y desarrollar la formulación de una cápsula que contenga el polvo del fruto seco de dos especies de chayote, *Sechium edule nigrum spinosum var. Dulce* y *Sechium edule nigrum spinosum var. Amargo*.

5.1 Objetivos específicos

Caracterizar los polvos de *Sechium edule* mediante calorimetría diferencial de barrido, pruebas reológicas y determinación de humedad.

Analizar la compatibilidad fármaco-excipientes de los dos polvos, mediante la calorimetría diferencial de barrido.

Desarrollar un estudio de ciclaje para evaluar el material de envase a usar.

6. Material y método

6.1 Diseño experimental

Tipo de Estudio: Experimental, Prospectivo

Población de estudio: Material vegetal *Sechium edule* 290 y *Sechium edule* 354 y cápsulas de hidroxipropilmetil celulosa que contengan *Sechium edule* 290 y *Sechium edule* 354 con excipientes.

Criterios de inclusión: Material vegetal *Sechium edule* 290 y *Sechium edule* 354 que proviene de Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule*, del Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) de la Universidad autónoma de Chapingo con tamaño de partícula de 150 micrómetros (malla 100).

Cápsulas de hidroxipropilmetilcelulosa sin defectos.

Criterios de exclusión: Material vegetal que no provenga del Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule*.

Excipientes que tengan interacción con el material vegetal.

Material vegetal que no cumpla con pruebas reológicas.

6.2 Equipo e instrumentos

Tabla 7. Equipo e Instrumentos.

EQUIPO/INSTRUMENTO	MARCA
Balanza analítica	OHAUS Explorer Pro
Balanza granataria	OHAUS
Bomba de vacío	Felisa FE – 1500L
Calorímetro	Perkin Elmer DSC 7
Compactador	Erweka SVM
Cromatógrafo (HPLC)	Hitachi Primaide
Equipo de filtración	Millipore
Espectrofotómetro	Varian Cary 50 Bio
Estufa	National Appliance
Estufa	Quinci Lab 30E Lab Oven
Microbalanza	Mettler MT5
Micropipeta	Socorex 10 – 100 mL
Molino	Krups
Potenciómetro	HANNA instruments H12210 pH Meter

Tabla 7 (continuación). Equipo e Instrumentos

Rotavapor	BÜCHI R-100
Sistema de Purificación de agua	Milli – Q Synthesis
Baño de ultrasonido	Branson
Termobalanza	OHAUS MB45

6.3 Reactivos

Tabla 8. Reactivos.

NOMBRE	MARCA
Metanol HPLC	Tecsiqum
PVP 97	JRS
EMCOCEL HD90 (Celulosa microcristalina)	Mendell
Fosfato de potasio monobásico	J. T. Baker
Fosfato de potasio dibásico	J. T. Baker
Lactosa	Farmacia París
Indio	Aldrich 99.9%
Hidróxido de Sodio	Macron Fine Chemicals

Tabla 8 (Continuación). Reactivos.

Ácido clorhídrico	J. T. Baker 37.4%
Carbosil M5	Padoquímica S.A de C.V.
Almidón	Ingredon
Peróxido de Hidrógeno	Aurax 11 volúmenes de Oxígeno 2.5% peróxido de hidrógeno
Talco	Donación
Ácido esteárico	Donación

6.4 Material vegetal

Tabla 9. Material Vegetal.

Nombre de la especie	Origen
<i>Sechium edule nigrum spinosum var. amargo</i> (<i>S. edule amargo</i>) <i>Sechium edule</i> 290	Banco Nacional de Germoplasma de <i>Sechium edule</i> , del Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) de la Universidad autónoma de Chapingo, ubicado en Huatusco, Veracruz.

Tabla 9 (continuación). Material Vegetal.

<p><i>Sechium edule nigrum spinosum</i> var. <i>dulce</i> (<i>S. edule dulce</i>) <i>Sechium edule</i> 354</p>	<p>Banco Nacional de Germoplasma de <i>Sechium edule</i>, del Centro Regional Universitario Oriente (CRUO) de la Universidad autónoma de Chapingo, ubicado en Huatusco, Veracruz.</p>
--	---

6.5 Material

Tabla 10. Material.

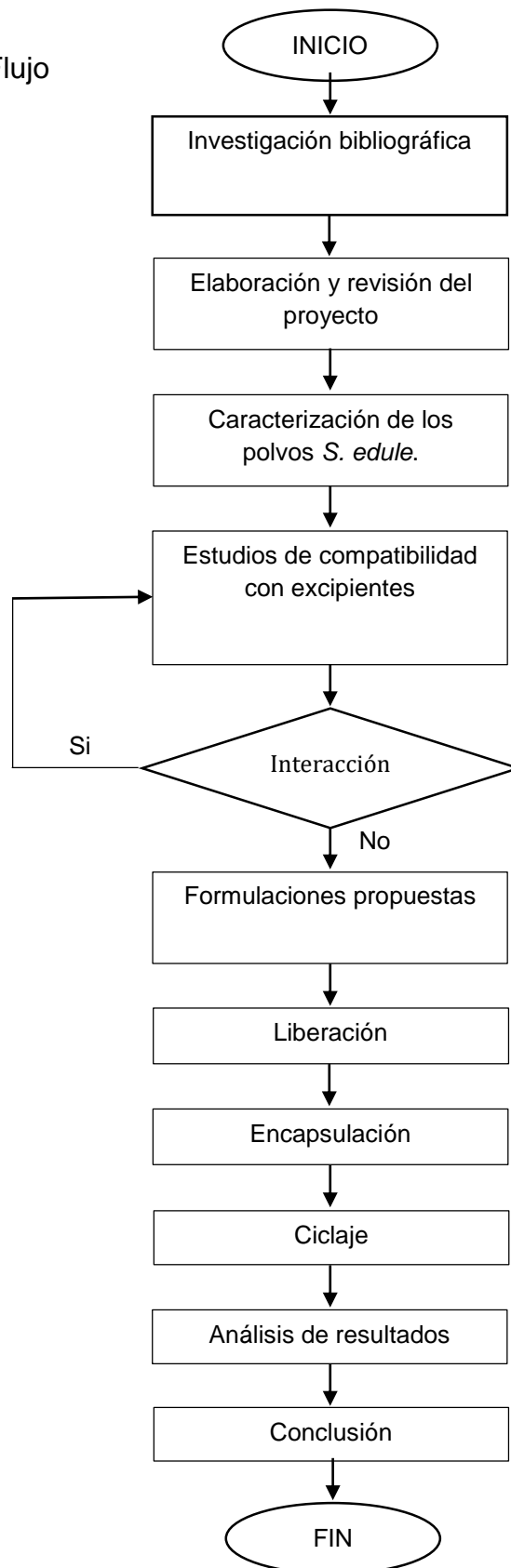
Nombre	Marca
Columna para HPLC	Phenomex Luna C18 150 x 4.60 mm 5 micrones.
Vaso de precipitados	Pyrex 500 mL
Matraz bola	A.R.O. 50 mL
Matraz erlenmeyer	Pyrex 125 mL
Cajas Petri	SYM Laboratorios
Viales de vidrio	—
Desecador	—

Tabla 10 (continuación). Material.

Charolas de aluminio	—
Crisoles de aluminio con tapa	Perkin Elmer

6.6 Metodología

Figura 10. Diagrama de Flujo



6.7 Técnicas

6.7.1 Caracterización de los polvos.

Caracterización de los polvos de *Sechium edule nigrum spinosum* 354 y *Sechium edule nigrum spinosum* 290.

Descripción: Se hizo de manera visual observando el color y forma, así como la percepción de su olor.

6.7.2 Método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

Condiciones del cromatógrafo:

Columna C₁₈150 x 4.60 mm. 5 micras.

Velocidad de flujo: 2.0 mL/min.

Longitud de onda: 229 nm.

Volumen de inyección: 20 µ L.

Tiempo de análisis: 3.5 min.

Fase móvil: Metanol:Buffer70:30

Solución amortiguadora: Fosfatos pH 7.4

6.7.2.1 Estándares

Para las muestras de cucurbitacina E y cucurbitacina B se pesaron 0.2 mg en una microbalanza, se transfirieron a un matraz volumétrico de 5 mL y se aforó con metanol para obtener una concentración de 40 µg/mL.

6.7.2.2 Análisis de polvos por separado

Los polvos de *S. edule* dulce y amargo fueron analizados por separado, así como la mezcla 80:20 dulce:amargo (proporción usada para el medicamento) de la siguiente manera:

Prueba 1: Se pesaron 2 gramos de *S. edule* dulce y se dejó reposar 24 horas en 75 mL de metanol. Después de 24 horas se filtró con un filtro de 0.45 μm de fibras de Nylon con adaptador para jeringa (concentrado), de éste filtrado se hizo una dilución de 1 mL/5 mL con metanol. Se tomó una muestra del primer filtrado y de la dilución para el cromatógrafo.

Prueba 2: Se pesó 1 gramo de cada polvo y se dejaron reposar 24 horas en 50 mL de metanol. Después de 24 horas se filtró con un filtro de 0.45 μm de fibras de Nylon con adaptador para jeringa (concentrado), de éste filtrado se hizo una dilución de 1 mL/5 mL en metanol. Se tomó una muestra del primer filtrado y de la dilución para HPLC.

Prueba 3: Se pesaron 2 gramos de cada polvo y se dejaron reposar 24 horas en 75 mL de metanol. Después de 24 horas se filtró con un filtro de 0.45 μm de fibras de Nylon con adaptador para jeringa (concentrado), de éste filtrado se hizo una dilución de 1 mL/5 mL en etanol.

Prueba 4: Se pesó 1 gramo de cada uno de los polvos, se dejó reposar 24 horas en 50 mL de metanol y la muestra se evaporó con calentamiento de una parrilla a 60 °C hasta concentrar a la mitad del volumen y de este concentrado se tomó una muestra para HPLC. Esto se hizo para observar si había presencia de cristales.

Prueba 5: Se hizo la mezcla 80:20 dulce:amargo, se pesaron 2 gramos de la mezcla de polvos y se dejaron reposar 24 horas en 50 mL de metanol. Después de 24 horas se tomó una muestra del sobrenadante para HPLC. Se tomó 1 mL del sobrenadante y se hizo una dilución 1/5 con Etanol. Finalmente se tomó todo el sobrenadante y se concentró hasta la mitad de su volumen con una parrilla a 60 °C y de éste concentrado se tomó una muestra para HPLC.

6.7.2.3 Extracción de cucurbitacinas.

La extracción se realizó de acuerdo con lo reportado por S. Salazar y J. Cadena^{18,19}, se pesaron 20 g de la mezcla 80:20 dulce: amargo, se probaron dos disolventes, etanol y metanol. La mezcla de polvos se dejó reposar 48 horas en 100 mL de etanol y en 100 mL de metanol, pero se tomó una muestra del sobrenadante para HPLC a las 24 horas. Después de 48 horas en los disolventes se tomó el sobrenadante y se evaporó a la mitad del volumen en un rotavapor a 45 °C con presión reducida y se tomó una muestra para HPLC. Las muestras se evaporaron a sequedad y el precipitado se volvió a re suspender con éter, se intentó filtrar, pero no se pudo recuperar el precipitado ya que era un polvo muy fino.

Segunda extracción de cucurbitacinas: Se hizo siguiendo el mismo procedimiento que para la primera extracción hasta la evaporación a sequedad. Para recuperar el precipitado se utilizó éter y se dejó evaporar a temperatura ambiente, el precipitado se recogió con una espátula y se dejó en una caja Petri, se secó a 40 °C en una estufa por 10 minutos. El precipitado seco se disolvió directamente en 5 mL de metanol. Se tomó una muestra para HPLC.

6.7.3 Degradaciones forzadas

Para el control se pesó 1 mg cada uno de los polvos secos, se completó a un volumen de 10 mL con metanol, se filtraron con filtros de 45 μm de fibras de nylon con adaptador para jeringa y la muestra filtrada se analizó en el cromatógrafo en las condiciones previamente mencionadas.

Se pesaron 50 mg de cada polvo y se dejaron reposar en 50 mL de metanol, después de 24 horas se filtró la disolución utilizando un filtro de 45 μm de fibras de nylon con adaptador para jeringa, de este filtrado se tomó 1 mL y se hizo una dilución de 1/5 mL en metanol. Esto se hizo para observar el comportamiento del filtrado y también para observar si existe solvólisis. Se tomaron muestras a las 24 horas, 3 días y 9 días.

Los polvos se analizaron por separado de acuerdo con la siguiente Tabla, se tomaron muestras a las 24 horas, 3 días y 9 días. En la Tabla 11 se muestran los factores y condiciones en las cuales se realizó el experimento.

Tabla 11. Factores y condiciones para degradaciones forzadas.

Muestras de polvo de <i>Sechium edule nigrum spinosum</i> var. dulce y var. amargo			
Factor	Condiciones experimentales	Temperatura/Humedad	Tiempo (días)
*Hidrólisis	Polvo + Agua destilada	40 °C	1, 3, 9
	Polvo + HCl 0.1 M	60 °C	
	Polvo + NaOH 0.1 M		
	HCl 0.1 M		
	NaOH 0.1 M		
*Oxidación	Polvo + H ₂ O ₂ 3%	25 °C	1, 3, 9
	H ₂ O ₂ 3%	60 °C	
**Fotólisis	Polvo en cámara UV	-	1, 3, 9
	Polvo en cámara de luz Blanca		
	Control oscuro (Polvo)		
	Control oscuro (Polvo)		

Tabla 11 (continuación). Factores y condiciones para degradaciones forzadas.

*Térmico	Polvo	60 °C / 75% HR	1, 3, 9
	Polvo	80 °C / 75% HR	
	Polvo	25 °C	
<p>* Pesar 100 mg de la muestra de cada uno de los polvos.</p> <p>Realizar por duplicado en viales</p> <p>** Colocar una capa de 3 mm de espesor en una caja Petri y envolver el control oscuro en papel estraza.</p> <p>NOTA: Se utilizó el polvo más fino después del tamizado.</p>			

Para el tratamiento se tomaron 60 μ L con micropipeta de los viales con el polvo en solución y se tomó 1 mg para las muestras de polvo seco, se completó a un volumen de 10 mL con metanol, se filtraron con filtros de 45 μ m de fibras de nylon con adaptador para jeringa y la muestra filtrada se leyó en el cromatógrafo en las condiciones previamente mencionadas.

6.7.4 Espectrofotometría por UV

A cada una de las muestras de degradación forzada se le realizó un barrido de 200 a 300 nm en el espectrofotómetro para detectar por éste método la aparición de nuevas señales.

6.7.5 Distribución de tamaño de partícula

Se tomaron 200 g de cada uno de los polvos sin ningún tratamiento y se sometió a un tamizado utilizando mallas de los números 20, 40, 60, 100 y 200. Se utilizó una balanza granataria para pesar cada uno de los polvos separados.

6.7.6 Reología

Para todas las muestras de análisis reológico se pesaron 20 g de polvo. Se realizó de acuerdo al método encontrado en la bibliografía, como se menciona a continuación: ⁴²

Al inicio se hicieron dos pruebas:

Prueba 1: Propiedades de flujo del polvo sin ningún tratamiento como lo entrega el proveedor.

Prueba 2: Propiedades de flujo utilizando el polvo de mayor proporción después del tamizado.

Finalmente se utilizaron las pruebas reológicas como un criterio para liberar las formulaciones finales.

Para todos los casos se obtuvieron los siguientes parámetros.

6.7.6.1 Ángulo de reposo

Se colocó un embudo de acero inoxidable a una distancia de 10 cm de la mesa de trabajo.

Se colocó la muestra del polvo en el embudo de acero inoxidable.

Se liberó el orificio de salida del embudo.

Se determinaron las medidas de la altura y del radio del montículo formado.

Se determinó el ángulo de reposo de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Tangente } \theta = \frac{H}{R}$$

Dónde:

θ = ángulo de reposo

H = Altura del montículo

R = Radio

Se realizó por triplicado.

6.7.6.2 Velocidad de flujo

Se midió el tiempo que tardó en caer todo el polvo de la muestra de ángulo de reposo con un cronómetro.

Se registró el tiempo.

Se realizó por triplicado.

6.7.6.3 Densidad aparente

Los 20 g de polvo se transfirieron a una probeta de 50 mL.

Se midió el volumen que ocupa el polvo

Se registró el volumen que ocupa el polvo.

La densidad aparente se calculó con la siguiente fórmula:

$$\delta a = \frac{M}{Vb}$$

Dónde:

δa = Densidad aparente

M = Peso de la muestra

Vb = Volumen ocupado por la masa

Se realizó por triplicado

6.7.6.4 Densidad compactada

La misma muestra de densidad aparente se colocó en un compactador.

Se golpeó 200 veces la probeta en el compactador.

Registrar el volumen que ocupa el polvo.

Se calculó la densidad compactada con la siguiente fórmula:

$$\delta c = \frac{M}{Vb}$$

Dónde:

δc = Densidad compactada

M = Peso de la muestra

Vb = Volumen que ocupa la masa después de ser golpeado

Se realizó por triplicado.

6.7.6.5 Índice de Compresibilidad

El índice de compresibilidad se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Índice de Compresibilidad} = \frac{\delta c - \delta a}{\delta c} \times 100$$

Dónde:

δa = Densidad aparente

δc = Densidad compactada

6.7.6.6 Índice de Hausner

El índice Hausner se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Índice de Hausner} = \frac{\delta a}{\delta c}$$

Dónde:

δa = Densidad aparente

δc = Densidad compactada

6.7.7 Prueba de humedad

Prueba 1: Se hizo una prueba de humedad a cada uno de los polvos sin ningún tratamiento previo por duplicado en una termobalanza por 10 minutos a 100 °C

Prueba 2: Se realizó una prueba de humedad a la mezcla 80:20 después de secar 30 minutos y después de secar 1 hora y media a 60 °C

6.7.8 Molienda

Para el proceso de molienda se utilizó un molino de corte para reducir el tamaño de partícula y se posteriormente se utilizó una malla de número 100 para tamizar y obtener el tamaño de partícula deseado.

Posteriormente se le hizo un análisis reológico como se indica en el apartado de reología. (Numeral 6.7.6)

6.7.9 Estudio de compatibilidad con excipientes

Se realizó el estudio de compatibilidad con excipientes por medio de la técnica de calorimetría diferencial de barrido (CDB). Se probaron los principales candidatos a ser excipientes en cápsulas de acuerdo con la Tabla 12.^{21, 26}

Tabla 12. Principales candidatos a ser excipientes en cápsulas de gelatina dura y su función

Excipiente	Función
Lactosa	Diluyente
Celulosa microcristalina (Emcocel HD 90)	Diluyente
Almidón de maíz	Desintegrante (dependiendo de la concentración puede funcionar como agente antifricción)

Tabla 12 (continuación). Principales candidatos a ser excipientes en cápsulas de gelatina dura y su función

Polivinilpirrolidona (Coprocesado PVP 97. Carbonato de calcio + PVP granular)	Agente antifricción y diluyente
Talco	Agente antifricción
Estearato de Magnesio	Agente antifricción
Ácido esteárico	Agente antifricción
Dióxido de silicio coloidal (Carbosil M5)	Agente antrifricción

Se hizo la mezcla en proporción 80:20 dulce:amargo y con ésta, se hicieron mezclas binarias con cada uno de los excipientes, se pesaron de 3 a 5 mg de la mezcla binaria en un crisol con tapa para calorímetro y posteriormente se hizo el análisis térmico de 25 a 250 °C a 10 °C / min.

6.7.10 Prueba de humedad a excipientes

Se realizaron pruebas de humedad a los excipientes que no presentaron interacción, en una termobalanza por 10 minutos a 100 °C.

6.7.11 Propuesta de formulaciones

Con base en los resultados de CDB se seleccionaron los excipientes que no tuvieron interacción, también se seleccionó un tamaño de partícula adecuado con base en la dosis de la mezcla 80:20 dulce:amargo necesaria para cada cápsula. Se

prepararon mezclas con los excipientes y se obtuvieron tres propuestas de formulaciones.

6.7.12 Liberación de fórmula

Para liberar la formulación se hicieron pruebas reológicas como se indica en el apartado del mismo nombre, también se realizaron pruebas de calorimetría diferencial de barrido de las formulaciones finales con las cápsulas para demostrar que no existía interacción entre ellas y con base en los resultados se procedió a la encapsulación de cada una de las formulaciones.

6.7.13 Encapsulación

6.7.13.1 Formulaciones

Formulación 1: Mezcla de polvos *S. edule* dulce más *S. edule* amargo 80:20 + Celulosa 6% + Talco 0.5%. Para el llenado de las cápsulas se pesaron 532.5 mg de la mezcla con los excipientes y se llenaron las cápsulas de forma manual.

Formulación 2: Mezcla de polvos *S. edule* dulce más *S. edule* amargo 80:20 + Celulosa 6% + Almidón 0.5%. Para el llenado de las cápsulas se pesaron 532.5 mg de la mezcla con los excipientes y se llenaron las cápsulas de forma manual.

Formulación 3. Mezcla de polvos *S. edule* dulce más *S. edule* amargo 80:20 + PVP 97. Para el llenado de las cápsulas se pesaron 530 mg de la mezcla con el excipiente y se llenaron las cápsulas de forma manual.

Se obtuvieron 30 cápsulas de cada una de las formulaciones.

6.7.13.1 Placebos

Placebos de formulación 1: se pesaron 32.5 mg de la mezcla de celulosa 6% + Talco 0.5% y se llenaron las cápsulas de forma manual.

Placebos de formulación 2: se pesaron 32.5 mg de la mezcla de celulosa 6% + Almidón 0.5% y se llenaron las cápsulas de forma manual.

Placebos de formulación 3: Se pesaron 30 mg de PVP 97 y se llenaron las cápsulas de forma manual.

Se obtuvieron lotes de 30 cápsulas cada uno.

6.7.14 Ciclaje

Se colocó un frasco vacío y un frasco con 10 cápsulas vacías a dos temperaturas diferentes 40 °C y 60 °C para observar la resistencia del material a las condiciones.

Se seleccionó la temperatura de 40 °C para trabajar el ciclaje.^{43, 44}

Para el ciclaje se tomaron 10 cápsulas de cada una de las formulaciones y 10 cápsulas de cada uno de los placebos y se colocaron en frascos de polietileno de alta densidad con tapa de seguridad. Se obtuvieron 3 frascos con 10 cápsulas cada frasco: muestra 1, muestra 2 y control.

En la Tabla 13 se muestra cómo se llevó acabo el ciclaje:

Tabla 13. Ciclaje

Muestra	48 horas	96 horas	144 horas
Muestra 1	40 °C	Temperatura ambiente	40 °C
Muestra 2	40 °C	Refrigeración	40 °C
Control	Temperatura ambiente	Temperatura ambiente	Temperatura ambiente

Se registraron los cambios que se apreciaron a simple vista.

6.7.15 Humedad a excipientes

Al final se hizo una prueba de humedad a las formulaciones finales en una termobalanza por 10 min a 100 °C.

La prueba se realizó a la mezcla antes de encapsular y después del ciclaje.

6.7.16 Proyecto de marbete

Con base en los resultados se hizo la propuesta de marbete para conocer los cuidados que se debe tener con el medicamento de acuerdo a la NOM-072-SSA1-2012, Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios.⁴⁵

7. Resultados

Caracterización de los polvos de *Sechium edule nigrum spinosum* 354 y *Sechium edule nigrum spinosum* 290.

7.1 Descripción

En las figuras 11 y 12 se muestran los certificados de análisis donde se incluye el ensayo realizado, el método utilizado y el resultado.

CERTIFICADO DE ANALISIS

Sechium edule nigrum spinosum var. dulce

Código: *Sechium edule nigrum spinosum* 354

Fecha de análisis: Febrero 2018

Nombre botánico: *Sechium edule nigrum spinosum* 354

Conservación: Conservar en contenedores bien cerrados en un lugar fresco y seco

ENSAYOS	RESULTADOS	MÉTODO
Aspecto	Polvo	Especificado por el analista
Color	Verde	Especificado por el analista
Olor	Característico. Dulce	Especificado por el analista
Parte de la planta	Fruto (Carné, piel, semilla y espinas)	Especificado por el proveedor
IDENTIFICACIÓN		
Identificación por calorimetría diferencial de barrido	Cumple. El termograma no muestra ninguna endoterma de 25 a 250 °C.	Especificado por el analista
Densidad aparente	0.5043 g/cm ³	Especificado por el analista
Densidad compactada	0.5661 g/cm ³	Especificado por el analista
Humedad	7.18 ± 5%	Especificado por el analista
Ángulo de reposo	19.52 °	Especificado por el analista
Material de envase origen	Bolsa de polietileno con cierre tipo zipper	Especificado por el proveedor

Figura 11. Certificado de análisis de *S. edule* dulce.

CERTIFICADO DE ANALISIS

Sechium edule nigrum espinosum var. amargo

Código: *Sechium edule nigrum espinosum* 290

Fecha de análisis: Febrero 2018

Nombre botánico: *Sechium edule nigrum spinosum* 290

Conservación: Conservar en contenedores bien cerrados en un lugar fresco y seco

ENSAYOS	RESULTADOS	MÉTODO
Aspecto	Polvo	Especificado por el analista
Color	Amarillo pálido	Especificado por el analista
Olor	Característico.	Especificado por el analista
Parte de la planta	Fruto (Carne, piel, semilla y espinas)	Especificado por el proveedor
IDENTIFICACIÓN		
Identificación por calorimetría diferencial de barrido	Cumple. El termograma no muestra ninguna endoterma de 25 a 250 °C.	Especificado por el analista
Densidad aparente	0.5405 g/cm ³	Especificado por el analista
Densidad compactada	0.6001 g/cm ³	Especificado por el analista
Humedad	6.45 ± 5%	Especificado por el analista
Ángulo de reposo	18.55 °	Especificado por el analista
Material de envase origen	Bolsa de polietileno con cierre tipo zipper	Especificado por el proveedor

Figura 12. Certificado de análisis de *S. edule* amargo.

7.2 Método por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)

7.2.1 Estándares

En la figura 13, se muestra el cromatograma de estándar de Cucurbitacina B de concentración 40 $\mu\text{g/mL}$ en metanol que tiene un tiempo de retención de 2.680 minutos por este método.

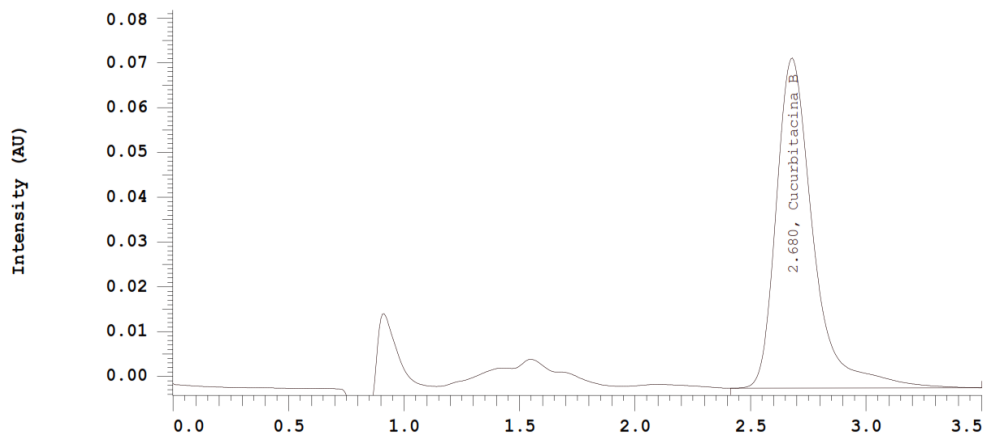


Figura 13. Cromatograma de Cucurbitacina B

En la Figura 14 se muestra el cromatograma de estándar de Cucurbitacina E de concentración 40 $\mu\text{g/mL}$ en metanol que tiene un tiempo de retención de 2.827 minutos por este método.

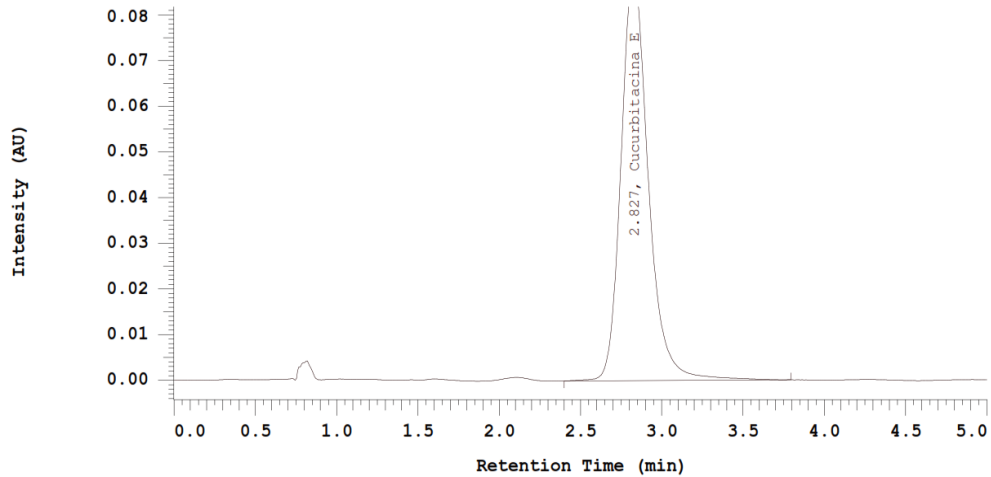


Figura 14. Cromatograma de Cucurbitacina E

En estas condiciones del cromatógrafo los picos muestran mejor resolución en metanol.

7.2.2 Análisis de polvo de *S. edule dulce* y *S. edule amargo* por separado

Prueba 1

En la Figura 15 se muestra el cromatograma del filtrado (concentrado), y en la Figura 14 se muestra el cromatograma de la dilución del filtrado, en ambos casos se encontraron dos señales no correspondientes al tiempo de retención de la cucurbitacina.

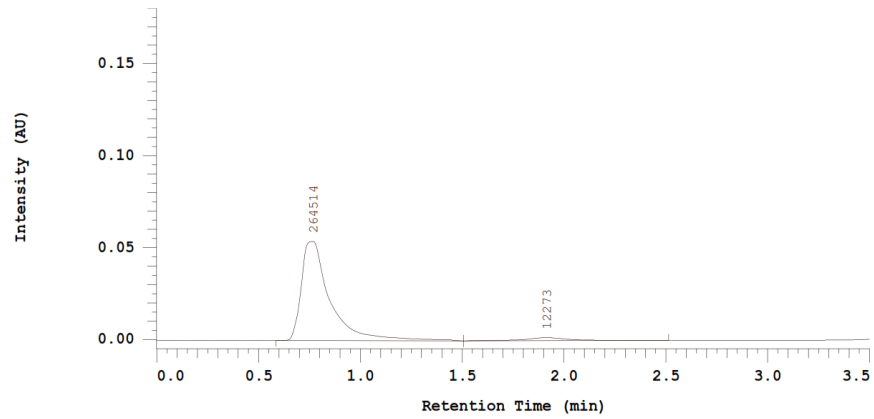


Figura 15. Cromatograma de *S. edule* dulce 2 g/ 75 mL de metanol (concentrado)

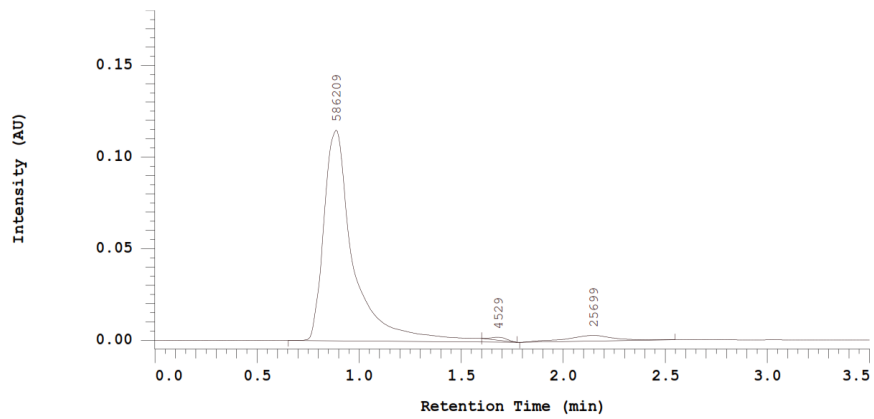


Figura 16. Cromatograma de *S. edule* dulce 2g / 75 mL en metanol diluido (1:5) de metanol

Prueba 2

En la figura 17 se muestra el cromatograma del primer filtrado (concentrado) el cual muestra un pico al minuto 2.680 que podría tratarse de la cucurbitacina B. En el cromatograma del polvo de *S. edule* dulce (figura 18) no se muestran picos que coincidan con el tiempo de retención de la cucurbitacina. Ambos se analizaron con el mismo tratamiento

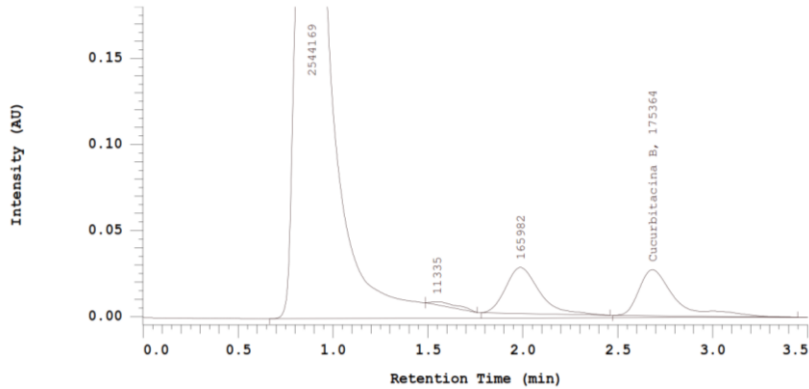


Figura 17. Cromatograma de *S. edule* Amargo 1g/50 mL de metanol concentrado después de 24 horas.

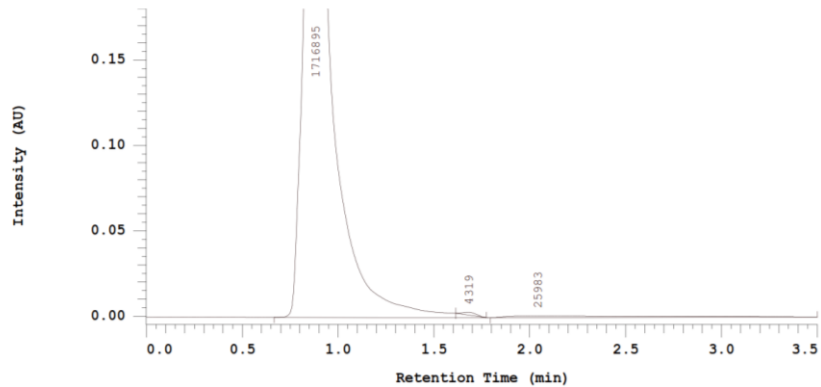


Figura 18. Cromatograma de *S. edule* Dulce 1g/50 mL de metanol concentrado después de 24 horas.

Prueba 3.

Con este tratamiento, en el cromatograma de *S. edule* dulce (Figura 19) que no se muestran picos correspondientes al tiempo de retención de la cucurbitacina, por otro lado, en la figura 20 se muestra el cromatograma de *S. edule* amargo con una señal en el minuto 2.347 pero tampoco coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina.

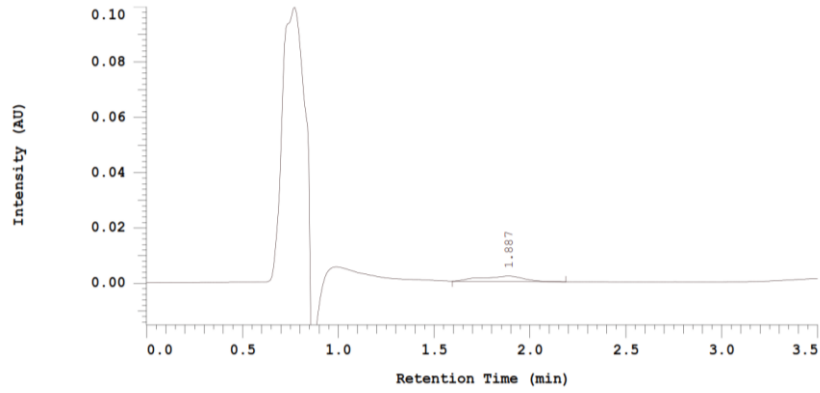


Figura 19. Cromatograma de *S. edule* dulce 2g/75 mL de metanol diluido 1:5 mL de etanol.

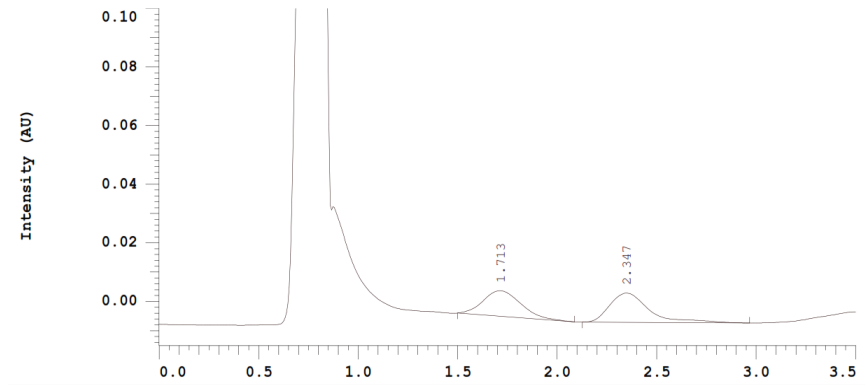


Figura 20. Cromatograma *S. edule* amargo 2 g / 75 mL de metanol diluido 1:5 mL de etanol

Prueba 4.

No se observó la presencia de cristales, en ninguno de los casos. En la figura 21 se muestra el cromatograma del concentrado por evaporación, de *S. edule* amargo en el cual se pueden ver dos señales, pero no son correspondientes con el tiempo de retención de la cucurbitacina y los picos no tienen resolución. Por otro lado, en el cromatograma de *S. edule* dulce (Figura 22) se muestran dos señales pequeñas de las cuales una coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina.

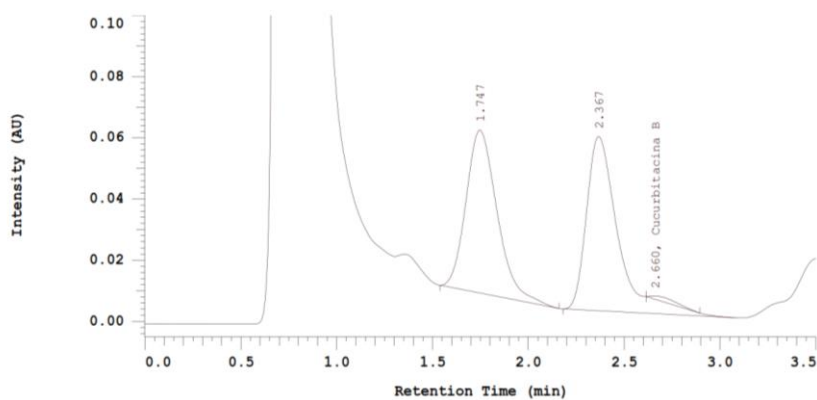


Figura 21. Cromatograma de *S. edule* amargo evaporado a 60 °C

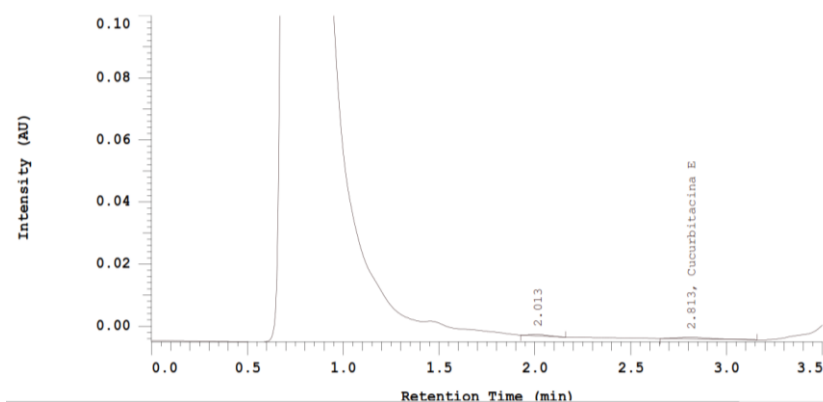


Figura 22. Cromatograma de *S. edule* dulce evaporado a 60 °C

Prueba 5

En la figura 23 no se encontraron señales correspondientes al tiempo de retención de la cucurbitacina. El cromatograma con la dilución 1:5 en etanol muestra dos señales, pero tampoco son correspondientes con el tiempo de retención de la cucurbitacina se encontró una señal al minuto 2.387 (figura 24). El sobrenadante que se concentró hasta la mitad de su volumen con una parrilla a 60 °C muestra en el cromatograma (figura 25) una señal en el minuto 2.420 pero las señales no corresponden al tiempo de retención de las cucurbitacinas.

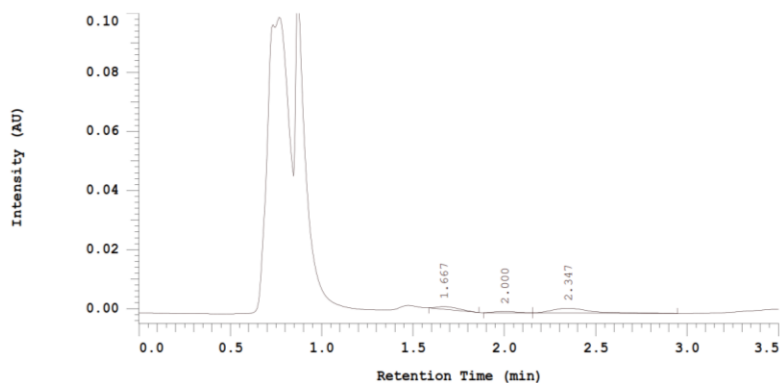


Figura 23. Cromatograma de mezcla 80:20 después de 24 horas.

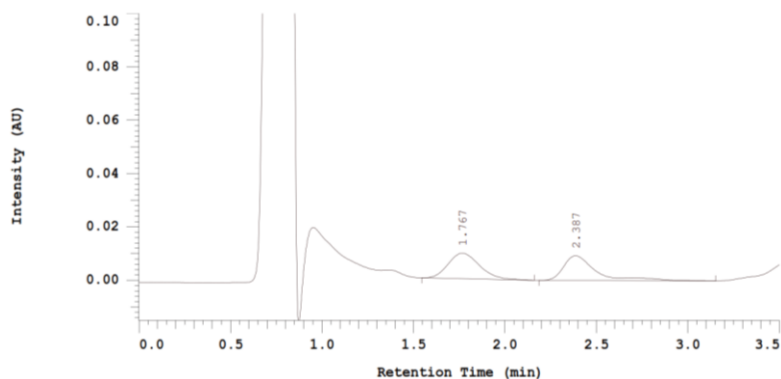


Figura 24. Cromatograma de mezcla 80:20 después de 24 horas diluido 1:5 en etanol.

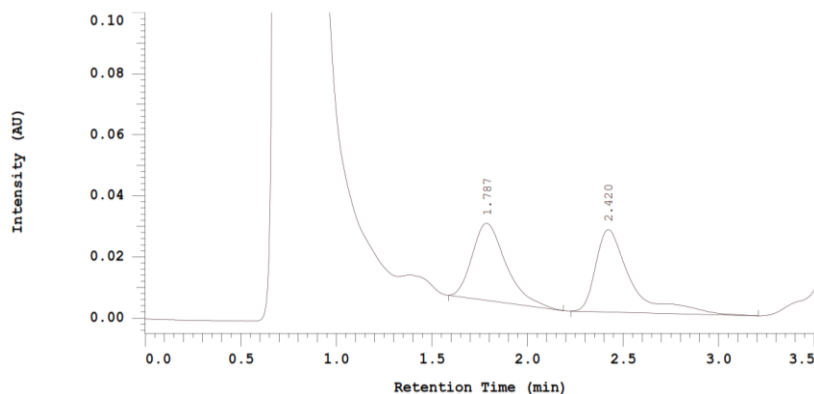


Figura 25. Cromatograma de mezcla 80:20 después de ser evaporada.

7.2.3 Extracción de las cucurbitacinas

El cromatograma donde se utilizó metanol (Figura 26) muestra un pico en el minuto 2.633 con un área de 80267 que coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina B. Para la muestra de 24 horas en etanol se muestra un pico con un tiempo de retención de 2.613 y un área de 42804, (Figura 27) casi la mitad del pico donde se utilizó metanol y también coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina.

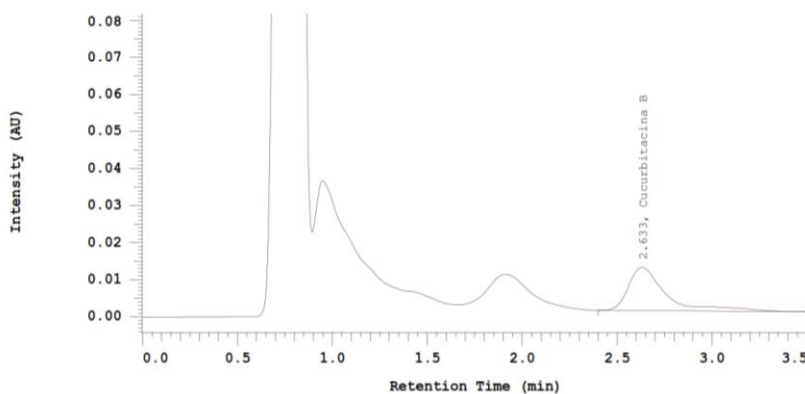


Figura 26. Cromatograma del sobrenadante de la mezcla 80:20 después de 24 horas en Metanol.

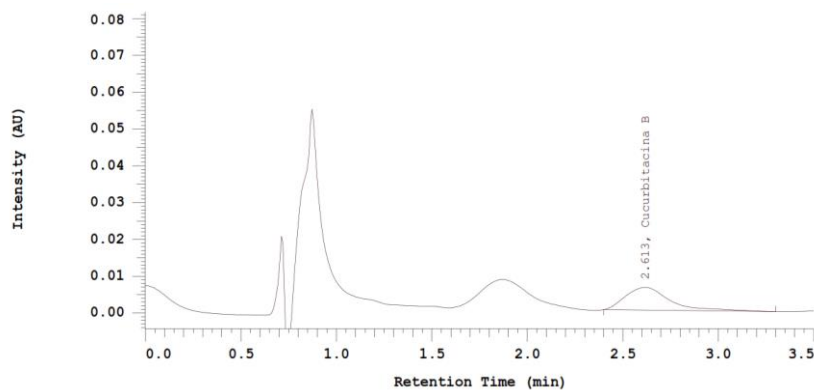


Figura 27. Cromatograma del sobrenadante de la mezcla 80:20 después de 24 horas en Etanol.

En el cromatograma de la extracción^{18, 19} donde se utilizó metanol aparece una señal al minuto 2.867 que coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina E con un área de 281759 (Figura 28). En el cromatograma donde se utilizó etanol aparecen 3 señales de las cuales una coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina E (Figura 29), pero no son picos definidos y el área es menor que en la muestra con metanol.

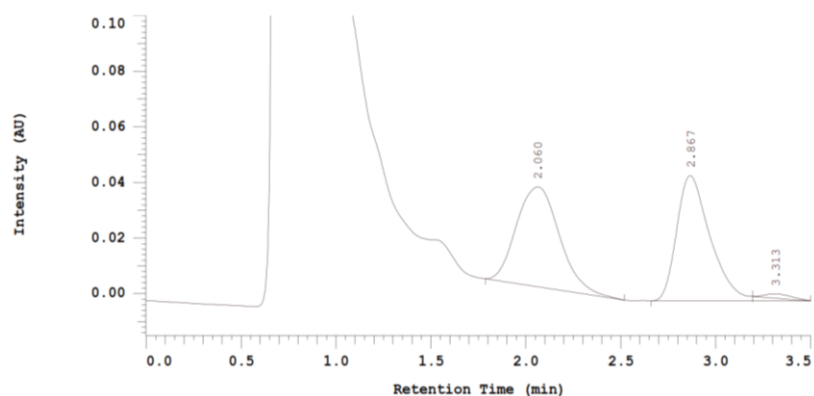


Figura 28. Cromatograma del sobrenadante de la mezcla 80:20 evaporado a la mitad del volumen después de 48 horas en metanol.

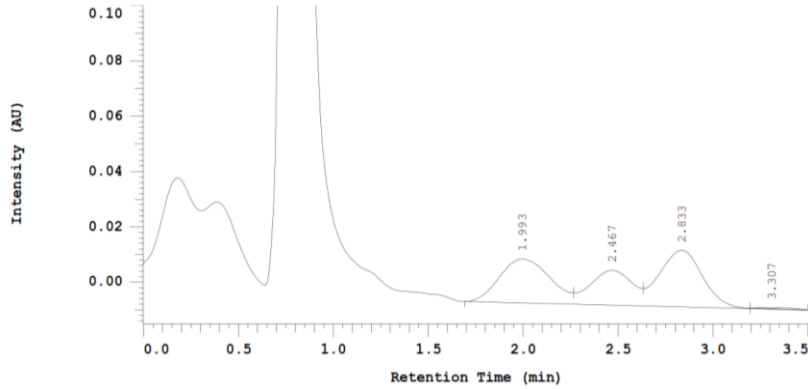


Figura 29. Cromatograma del sobrenadante de la mezcla 80:20 evaporado a la mitad del volumen después de 48 horas en etanol.

Segunda extracción de cucurbitacinas

Los cromatogramas muestran una señal al minuto 2.520 con área de 507 con el precipitado obtenido de la extracción con metanol (Figura 30) y una señal al minuto 2.540 con área de 1598 con el precipitado obtenido con la extracción con etanol (Figura 31), pero las señales no son correspondientes con el tiempo de retención de las cucurbitacinas y las señales que se muestra son muy pequeñas para ser cuantificadas.

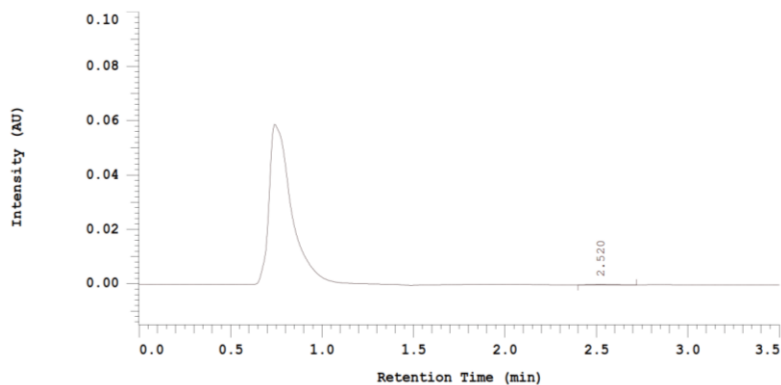


Figura 30. Cromatograma del precipitado re suspendido en metanol de la extracción con metanol.

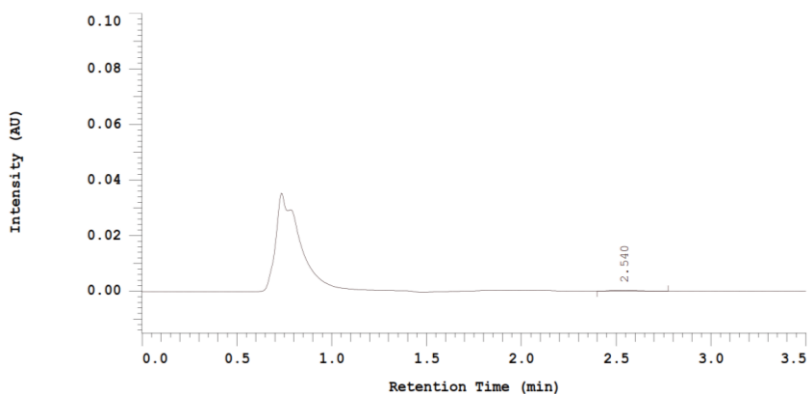


Figura 31. Cromatograma del precipitado resuspendido en metanol de la extracción con etanol.

El objetivo de hacer éstos análisis fue probar diferentes tipos de extracción para las cucurbitacinas ya que el método que se encuentra reportado en la literatura ^{18, 19} es complejo y el tiempo de análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución es muy largo, por lo cual no es conveniente usarlo como método analítico. Se puede observar en los resultados que se muestran picos con un área mayor cuando se hace la extracción con metanol que con etanol ya que, con etanol se observan otros picos diferentes a los de interés que son los de las cucurbitacinas, por lo que para un posterior método analítico se recomienda utilizar sólo metanol. Por otro lado, también se observa que se obtiene respuesta (picos) evaporando la mezcla a presión reducida después de 48 horas, y que al resuspender el precipitado que se obtiene después de la evaporación hasta sequedad, no se observan picos por lo que también sería conveniente hacer un análisis por IR del precipitado y comprobar por éste método si hay presencia de cucurbitacinas en el mismo. Para un posterior método analítico se recomienda no exceder el tiempo de 48 horas de extracción ya que como se verá más adelante el polvo es susceptible a hidrólisis y solvólisis.

7.3 Degradaciones forzadas

A continuación, se muestran los cromatogramas obtenidos para las degradaciones forzadas, desde los controles y todos los factores a los que se sometió cada muestra.

En las figuras 32 y 33 se muestran los cromatogramas utilizados como controles para tener una referencia para las pruebas de degradaciones forzadas y tener un punto de comparación.

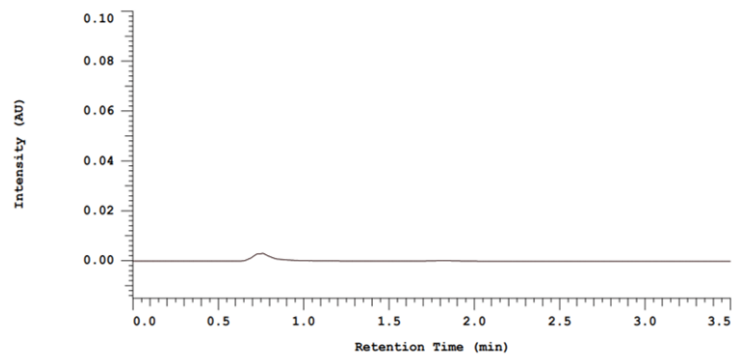


Figura 32. Control *S. edule* dulce.

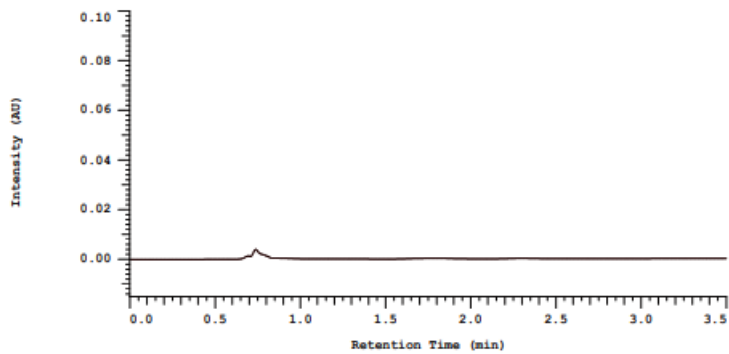


Figura 33. Control *S. edule* amargo.

A continuación, se muestran los resultados de los análisis por HPLC de los dos polvos en metanol.

S. edule amargo concentrado.

1. En el cromatograma de 24 horas se muestra una señal al minuto 1.820. No se muestra ninguna señal que coincida con la cucurbitacina. (Figura 34)
2. En el cromatograma de 3 días se muestra una señal al minuto 2.000 (Figura 35)
3. En el cromatograma de 9 días se muestra una señal al minuto 2.187 y aparecen otras pequeñas señales. (Figura 36)

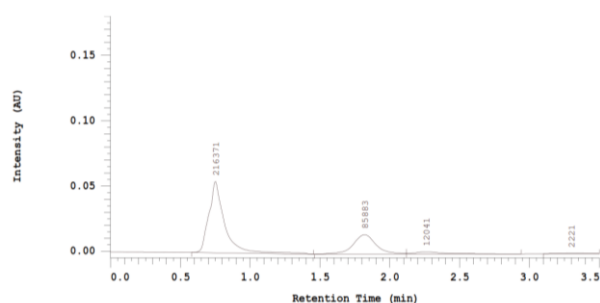


Figura 34. *S. edule* Amargo concentrado, 24 horas.

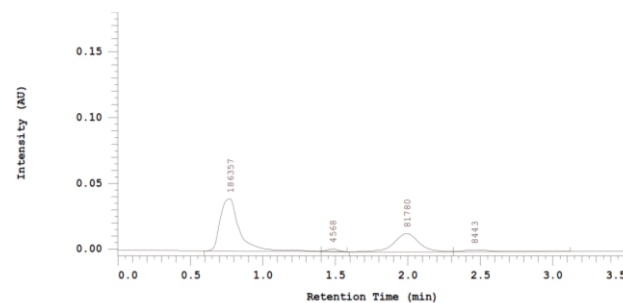


Figura 35. *S. edule* Amargo concentrado, 3 días.

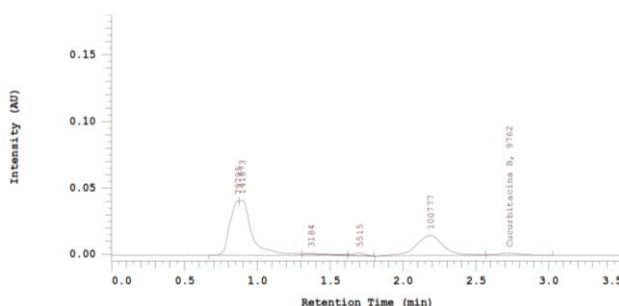


Figura 36. *S. edule* Amargo concentrado, 9 días.

Se puede decir que en los 3 cromatogramas aparece la misma señal al mismo tiempo y con un área parecida pero no coincide con el tiempo de retención de las cucurbitacinas. En el último cromatograma aparecen nuevas señales pequeñas lo que podría indicar que posiblemente el polvo es susceptible a solvólisis.

S. edule amargo diluido.

1. Se muestra una señal al minuto 1.820 y otras señales pequeñas. (Figura 37)
2. Se muestra una señal al minuto 1.993 y otras señales pequeñas. (Figura 38)
3. Se muestra una señal al minuto 1.700 y otras señales pequeñas. (Figura 39)

Ninguna de las señales coincide con el tiempo de retención de la cucurbitacina y las demás señales son muy pequeñas para ser cuantificadas.

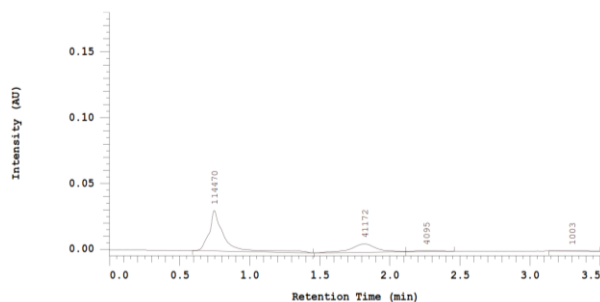


Figura 37. *S. edule* Amargo diluido,
horas.

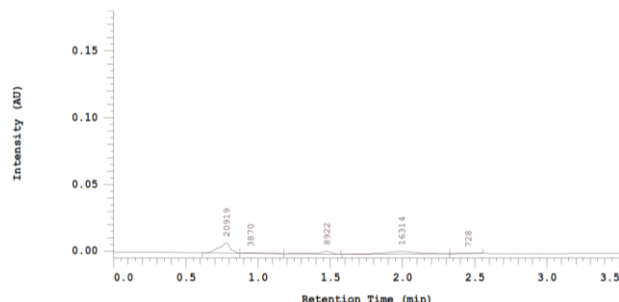


Figura 38. *S. edule* Amargo diluido, 3 días.

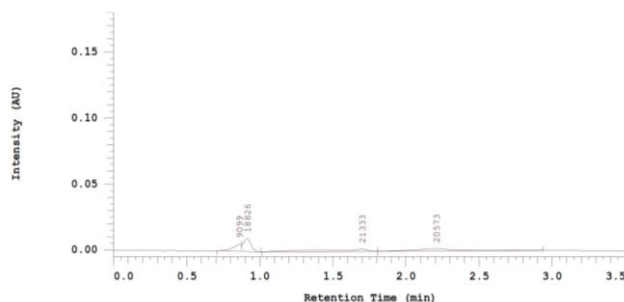


Figura 39. *S. edule* Amargo diluido, 9 días

S. edule dulce concentrado.

1. Se muestra una señal al minuto 1.820 (Figura 40)
2. Se muestra una señal al minuto 2.000 (Figura 41)
3. Se muestra una señal al minuto 2.187 y otras señales pequeñas. (Figura 42)

Ninguna de las señales coincide con el tiempo de retención de las cucurbitacinas con el paso de los días van apareciendo señales nuevas pero pequeñas que podrían indicar solvólisis.

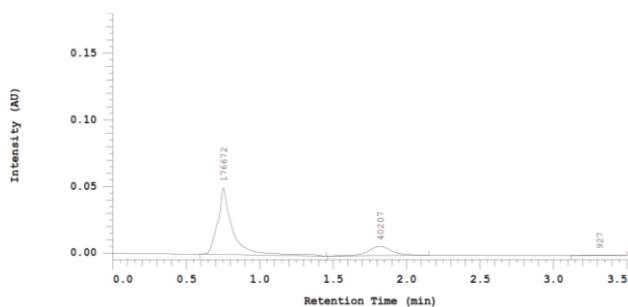


Figura 40. *S. edule* Dulce concentrado, 24 horas.

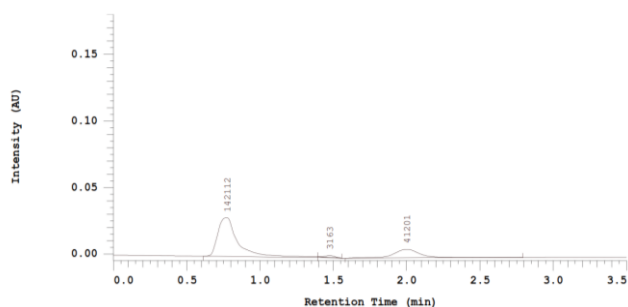


Figura 41. *S. edule* Dulce concentrado, 3 días.

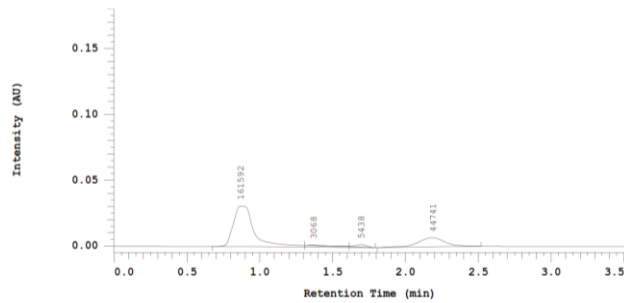


Figura 42. *S. edule* Dulce concentrado, 9 días.

S. edule dulce diluido.

1. Aparece una señal al minuto 1.820 pero con un área menor que en la muestra concentrada. (Figura 43)

2. Se muestra una señal al minuto 2.000. (Figura 44)

3. Aparece una señal al minuto 2.207. (Figura 45)

De igual forma conforme pasan los días aparecen nuevas señales pequeñas que podrían indicar solvólisis. Aparece una señal constante en los 3 cromatogramas, podría indicar que hay una molécula soluble en metanol que aparece en ese minuto.

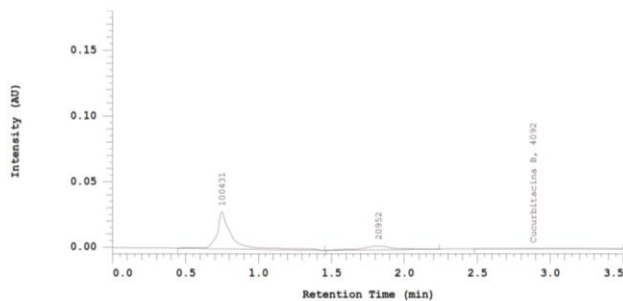


Figura 43. *S. edule* Dulce diluido, 24 horas.

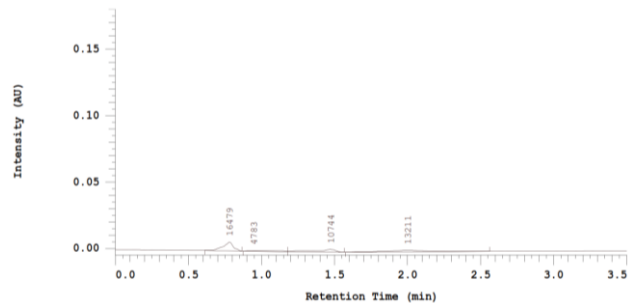


Figura 44. *S. edule* Dulce diluido, 3 días.

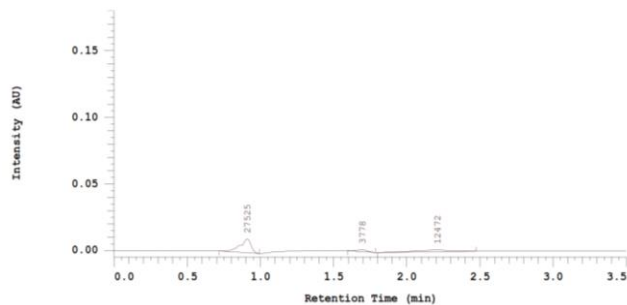


Figura 45. *S. edule* Dulce diluido, 9 días

Estas muestras se analizaron únicamente para conocer el comportamiento del polvo en el disolvente. Las muestras indican aparición de nuevas señales y otras que desaparecen, por lo que se puede decir que esas señales podrían deberse a solvólisis por las condiciones en las que se hizo el experimento, pero esto sólo puede confirmar haciendo pruebas de resonancia magnética nuclear o espectroscopía infrarroja de las moléculas que se extraen en un principio. Debido a éstos resultados no es recomendable que para un posterior método analítico se tenga el polvo por más de 48 horas en el disolvente.

A continuación, se muestran los resultados de las degradaciones forzadas en las diferentes condiciones de hidrólisis, temperatura, humedad y luz y las imágenes de los cromatogramas se encuentran en el anexo 1.

Se muestran en primer lugar los resultados para *S. edule dulce*.

S. edule dulce.

Hidrólisis con agua a 40 °C.

En éstos cromatogramas aparece una señal que después con el paso del tiempo es imperceptible. En los 3 cromatogramas aparecen señales después del paso de los días lo que podría indicar que el polvo es susceptible a hidrólisis. (Figura 58, 59 y 60 del Anexo 1)

Hidrólisis con ácido clorhídrico a 40 ° C

Los cromatogramas muestran señales desde el día 1 pero puede coincidir con el pico que aparece en las muestras que únicamente están diluidas en metanol, sin embargo, con el paso del tiempo aparecen nuevas señales que pueden indicar la aparición de productos de degradación, por lo que el polvo podría ser susceptible a hidrólisis ácida. (Figuras 61, 62 y 63 del Anexo 1)

Hidrólisis con hidróxido de Sodio a 40 °C

En el cromatograma 64 del Anexo 1 aparece una señal que coincide con el pico que aparece en las muestras únicamente diluidas con metanol, ésta señal es imperceptible después de varios días y aparecen nuevas señales que podrían ser productos de degradación lo que indica que el polvo puede ser susceptible a hidrólisis alcalina. (Figuras 64, 65 y 66 del Anexo 1)

Hidrólisis con agua a 60 °C

Al contrario de la hidrólisis con agua a 40 °C en estos cromatogramas se van perdiendo señales, pero posiblemente se estén formando productos de degradación

que no se pueden observar en esta longitud de onda. (Figuras 67, 68 y 69 del Anexo 1)

Hidrólisis con ácido clorhídrico a 60 °C

En primer cromatograma aparece una señal que coincide con la del polvo sólo en metanol, en los cromatogramas aparecen nuevas señales a los 3 días y a los 9 días lo que indica que se están generando productos de degradación, por lo que el polvo puede ser susceptible a hidrólisis ácida. (Figuras 70, 71 y 72 del Anexo 1)

Hidrólisis con hidróxido de sodio a 60 °C

En los cromatogramas aparecen nuevas señales después de pasado el tiempo, lo que indica que hay degradación y que el polvo podría ser sensible a hidrólisis alcalina. (Figuras 73, 74 y 75 del Anexo 1)

Oxidación a 25 °C con peróxido de hidrógeno

Se muestran señales desde el día 1, hay una señal que bien podría coincidir con el polvo sólo en metanol, pero después de 9 días el cromatograma muestra una nueva señal por lo que se puede decir que es posible que este polvo sea sensible a oxidación, pero ésta reacción se lleva a cabo lentamente en estas condiciones y a esa temperatura. (Figuras 76, 77 y 78 del Anexo 1)

Oxidación a 60 °C con peróxido de hidrógeno

En los cromatogramas no se muestran nuevas señales después de varios días, sin embargo, es posible que sí se estén formando productos de degradación que no se pueden ver en esta longitud de onda ya que, como se vio en los cromatogramas de

oxidación a 25 °C, sí es posible apreciar la aparición de nuevas señales, el polvo podría ser susceptible a oxidación, pero ésta reacción se lleva a cabo lentamente. (Figuras 79, 80 y 81 del Anexo 1)

Fotólisis con luz blanca

En estos cromatogramas no se observa la aparición de nuevas señales conforme pasa el tiempo, los cromatogramas se parecen mucho entre sí y son parecidos al control, por lo que se puede decir que este polvo no es sensible a fotólisis con luz blanca. (Figuras 82, 83 y 84 del Anexo 1)

Fotólisis con luz UV

En estos cromatogramas no se observa que aparezcan nuevas señales conforme pasa el tiempo, los cromatogramas son parecidos entre sí y parecidos al control, por lo que se puede decir que este polvo no es sensible a fotólisis con luz UV. (Figuras 85, 86, 87 del Anexo 1)

Degradación térmica a 60 °C / 75% HR

En estos cromatogramas se observa la aparición de nuevas señales con el paso de los días a comparación con el polvo que sólo está en metanol, lo que indica que hay degradación y que el polvo puede ser sensible a la humedad y a la temperatura. (Figuras 88, 89 y 90 del Anexo 1)

Para el caso de *S. edule* se puede observar que podría ser susceptible a hidrólisis ácida e hidrólisis alcalina.

Degradación térmica a 80 °C / 75% HR

En los cromatogramas se muestra la aparición de nuevas señales en diferentes tiempos de retención por lo que se puede decir que este polvo es sensible a la humedad y temperaturas altas. (Figuras 91, 92 y 93 del Anexo 1)

A continuación, se muestran los resultados de *S. edule* amargo en las diferentes condiciones de hidrólisis, temperatura, humedad y luz. Los cromatogramas se encuentran en el anexo 1.

S. edule amargo

Hidrólisis con agua a 40 °C

En estos cromatogramas de igual forma con el paso de los días aparecen señales nuevas que podrían indicar la aparición de productos de degradación, lo que indica que este polvo también puede ser susceptible a hidrólisis. (Figuras 94, 95 y 96 del Anexo 1)

Hidrólisis con ácido clorhídrico a 40 °C

Los cromatogramas muestran señales nuevas conforme pasa el tiempo lo que indica que posiblemente existan productos de degradación, esto quiere decir que el polvo podría ser susceptible a hidrólisis ácida (Figuras 97, 98 y 99 del Anexo 1)

Hidrólisis con hidróxido de sodio a 40 °C

En el cromatograma 1 aparece una pequeña señal que coincide con la muestra de sólo metanol muy pequeña, aparecen nuevas señales en el segundo y tercer

análisis, lo que indica que el polvo puede ser susceptible a hidrólisis alcalina. (Figuras 100, 101 y 102 del Anexo 1)

Hidrólisis con agua a 60 °C

En estos cromatogramas se observa la aparición de nuevas señales después de varios días, que pueden indicar la aparición de productos de degradación por lo que se puede decir que el polvo es susceptible a hidrólisis. (Figuras 103, 104 y 105 del Anexo 1)

Hidrólisis con ácido clorhídrico a 60 °C

En los cromatogramas se muestra que aparecen nuevas señales en los análisis, conforme pasa el tiempo. Se están generando productos de degradación, lo que indica que el polvo podría ser susceptible a hidrólisis ácida. (Figuras 106, 107 y 108 del Anexo 1)

Hidrólisis con hidróxido de sodio a 60 °C

En el cromatograma de las 24 horas aparece una señal que coincide con la señal del polvo sólo en metanol, también aparecen nuevas señales a diferentes tiempos y una desaparece lo que quiere decir que hay degradación y el polvo puede ser sensible a hidrólisis alcalina. (Figuras 109, 110, 111 del Anexo 1)

Oxidación con peróxido de hidrógeno a 25 °C

En estos cromatogramas aparecen señales nuevas conforme pasan los días, lo que indica que se están generando productos de degradación y que este polvo sí podría

ser susceptible a oxidación a esta temperatura. (Figuras 112, 113 y 114 del Anexo 1)

Oxidación con peróxido de hidrógeno a 60 °C

Por el contrario, en estos cromatogramas se puede observar como aparecen señales en diferentes tiempos de retención, por lo que se puede decir que éste polvo es sensible a oxidación. (Figuras 115, 116 y 117 del Anexo 1)

Fotólisis con luz blanca

En estos cromatogramas sólo aparece una señal en el segundo, posiblemente sea un producto de degradación ya que desaparece en el último, se puede decir que éste polvo es sensible a fotólisis con luz blanca, pero no hay evidencia suficiente para asegurarlo, ya que en el barrido hecho en espectro UV no se observa ningún cambio. (Figuras 118, 119 y 120 del Anexo 1 y 152 del Anexo 2)

Fotólisis con UV

Los cromatogramas se muestran parecidos, no se logra ver la aparición de nuevas señales y el cromatograma es parecido al control por lo que se puede decir que el polvo no es sensible a fotólisis con luz UV. (Figuras 121, 122 y 123 del Anexo 1)

Degradación térmica a 60 °C / 75 % HR

En los cromatogramas se muestra que aparecen nuevas señales conforme pasa el tiempo, se puede decir que este polvo también podría ser sensible a la humedad y la temperatura. (Figuras 124, 125 y 126)

Degradación térmica a 80 °C / 75 % HR

En los cromatogramas se muestran nuevas señales en los días 3 y 9 en diferentes tiempos de retención por lo que se puede decir que este polvo puede ser sensible a la humedad y a altas temperaturas. (Figuras 127, 128 y 129)

7.4 Espectrofotometría por UV

En las imágenes se muestran únicamente los espectros UV del día número 9 en comparación al control utilizado. Todas las imágenes muestran cambios, lo que quiere decir que existen degradaciones excepto en el análisis de luz blanca y UV los cuales se parecen al control, lo que indica que no hay degradación en estas condiciones. Las imágenes de los barridos por UV se encuentran en el anexo 2. (Figuras 130 – 155 del Anexo 2)

El objetivo de hacer un estudio de degradaciones forzadas o estabilidad inicial, es identificar las condiciones en las que un compuesto que tiene propiedades farmacológicas sea estable y de ésta forma se puede obtener tener conocimiento de las condiciones en las cuales se debe fabricar el producto, los excipientes que posiblemente se puedan usar en la formulación y la forma en que se debe proteger al producto final, es decir, el envase primario.¹⁹ Por lo tanto, con base en los resultados obtenidos fue posible identificar que los factores que afectan al polvo son la humedad, la temperatura, lo cambios de pH y en menor medida el oxígeno, esto es un supuesto dados los resultados obtenidos, para todos los casos las señales pueden deberse a las condiciones a las que el compuesto fue sometido, sin embargo para poder asegurarlo se necesitaría realizar análisis de confirmación de

cada uno de los productos, dichos análisis de confirmación pueden ser la Resonancia Magnética Nuclear o la Espectroscopia Infrarroja, no obstante dados los resultados se tomaron en cuenta para la posterior formulación.

7.5 Prueba de humedad

En la Tabla 14 se muestran los resultados de la prueba de humedad para los polvos de *S. edule* dulce y amargo como es entregado por el proveedor, es decir, sin ningún tratamiento previo.

Tabla 14. Resultados del porcentaje de humedad de *S. edule* dulce y *S. edule* amargo sin ningún tratamiento previo

<i>S. edule nigrum spinosum var. dulce</i>	<i>S. edule nigrum spinosum var. amargo</i>
%Humedad	%Humedad
6.42%	7.07%
6.48%	7.29%

En las pruebas de humedad sin ningún tratamiento previo al polvo se puede observar que tienen un alto contenido de humedad (Tabla 15) para la formulación de las cápsulas. Se hizo la mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo y se sometió a un proceso de secado a 60 °C primero por 30 minutos y posteriormente a 60 °C por 90 minutos. En la Tabla 15 se muestran los resultados de la prueba de humedad después de un proceso de secado de la mezcla de polvos.

Tabla 15. Resultados del porcentaje de humedad de la mezcla 80:20 dulce:amargo después de un proceso de secado

30 minutos % Humedad	90 minutos % Humedad
2.77%	1.97%

Se puede observar en la Tabla 19 que se logró disminuir hasta un 1.97 % de humedad en la mezcla de polvos, lo cual ya es aceptable para la formulación de cápsulas. Como se demostró en las pruebas de degradación forzada la humedad es un factor importante que afecta al polvo, la humedad puede provocar hidrólisis y como también se demostró, el polvo es susceptible a la hidrólisis y esto puede afectar las propiedades del polvo como el flujo y la compactación.^{18, 20}

7.6 Distribución del tamaño de partícula

En las figuras 46 y 47 se muestran los resultados de la distribución del tamaño de partícula después del tamizado utilizando las mallas de los números 20, 40, 60, 100 y 200 para cada uno de los polvos.

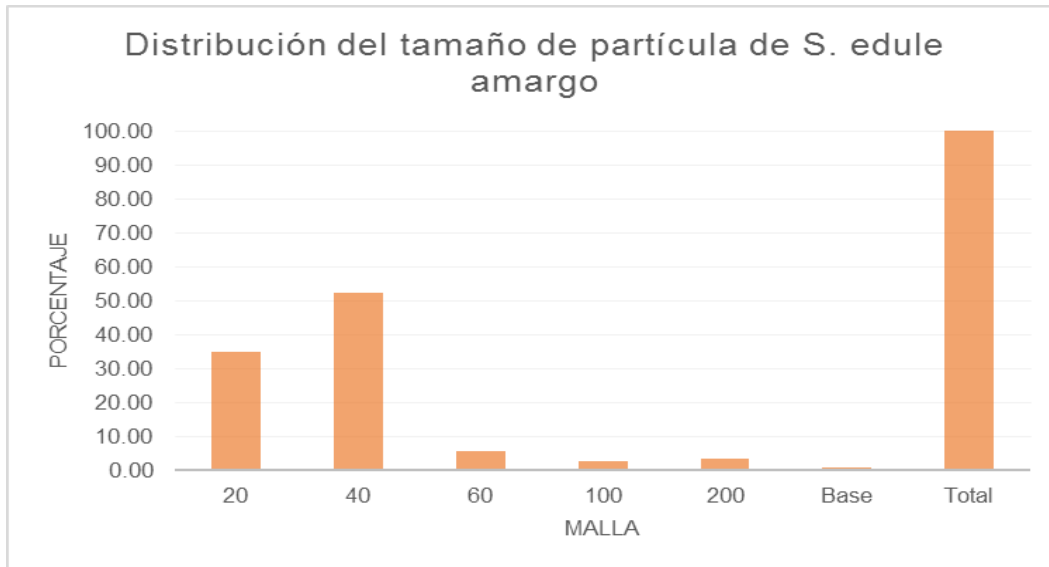


Figura 46. Distribución del tamaño de partícula de *S. edule* amargo

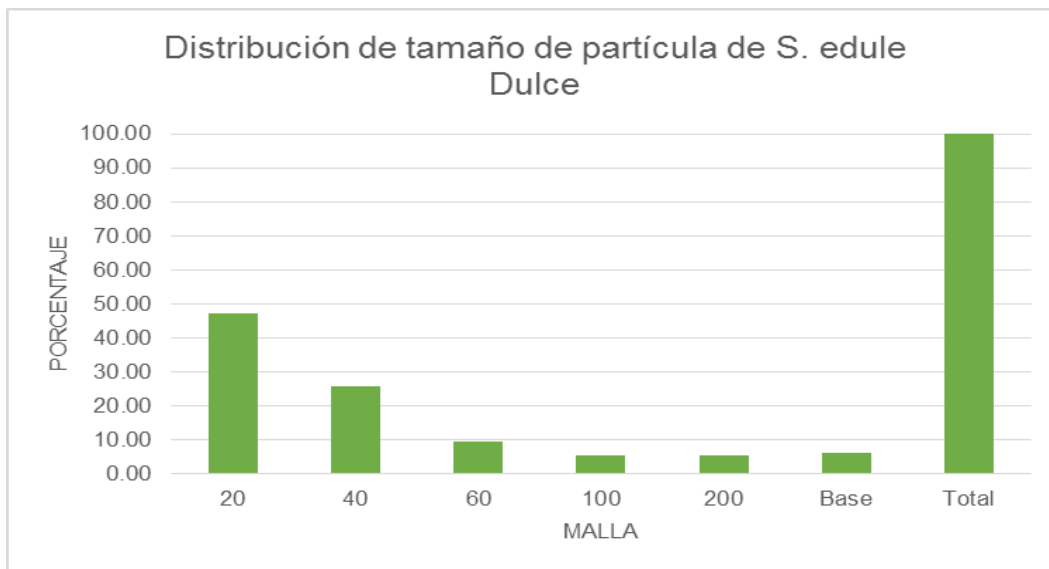


Figura 47. Distribución de tamaño de partícula de *S. edule* dulce.

Se observa que hay una mayor distribución en las mallas número 20 y 40 para ambos casos, esta distribución de tamaño de partícula fue hecha al polvo entregado por el proveedor sin hacer ningún tratamiento. Se le realizaron pruebas reológicas

al polvo sin ningún tratamiento para conocer sus propiedades de flujo y compresión, esto se hizo para saber si era conveniente hacer la encapsulación del mismo.

7.7 Reología

Prueba 1.

Las propiedades de flujo del polvo son entre regular y excelente sin ningún tratamiento como se muestra en las Tablas 16 y 17.

Prueba 2.

El flujo del polvo es entre bueno y excelente utilizando el de mayor proporción (Tablas 18 y 19), sin embargo al tamizar el polvo se pudo notar que la forma de las partículas no es homogéneo, por lo que tuvo que pasar por un proceso de molienda para obtener una mejor formulación, ya que si el tamaño de partícula no es homogéneo puede afectar la formulación, la biodisponibilidad y podría complicar la estandarización de un método analítico.¹⁹ Por tal razón se tuvo que seleccionar un tamaño de partícula apropiada después de un proceso de molienda que permitiera utilizar la dosis de la mezcla de polvos (80:20 dulce:amargo) de 500 mg por cápsula. Para obtener esos resultados se utilizaron como criterios el índice de compresibilidad y el índice de Hausner los cuales se pueden calcular utilizando los datos de densidad aparente y densidad compactada, así mismo el ángulo de reposo es un criterio para determinar las propiedades de flujo del polvo.

	S. edule Dulce			S. edule Amargo			Mezcla 80:20		
	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)
Ángulo de reposo	20.00	8.50	1.50	20.00	8.30	1.70	20.00	8.50	1.40
	20.00	8.20	1.30	20.00	9.50	1.50	20.00	8.50	1.50
	20.00	8.90	1.80	20.00	9.50	1.50	20.00	9.30	1.60
	Peso (g)	Tiempo (s)		Peso (g)	Tiempo (s)	-	Peso (g)	Tiempo (s)	-
Velocidad de flujo	20.00	1.38	-	20.00	0.93	-	20.00	1.19	-
	20.00	1.42	-	20.00	1.20	-	20.00	1.40	-
	20.00	1.12	-	20.00	0.93	-	20.00	1.24	-
	Peso (g)	Volumen (mL)		Peso (g)	Volumen (mL)	-	Peso (g)	Volumen (mL)	-
Densidad aparente	20.00	40.00	-	20.00	37.00	-	20.00	42.00	-
	20.00	40.00	-	20.00	36.00	-	20.00	40.00	-
	20.00	39.00	-	20.00	37.00	-	20.00	41.00	-
Densidad compactada	20.00	35.00	-	20.00	34.00	-	20.00	37.00	-
	20.00	36.00	-	20.00	33.00	-	20.00	35.00	-
	20.00	35.00	-	20.00	33.00	-	20.00	37.00	-

Tabla 16. Resultados obtenidos para calcular las propiedades de flujo para el polvo sin ningún tratamiento previo.

	S. edule Dulce	S. edule Amargo	Mezcla 80:20
Ángulo de reposo	19.44	22.28	22.28
	17.59	17.53	17.53
	22.02	17.53	17.53
Promedio	19.69	19.11	19.11
Velocidad de flujo	1.38	0.93	1.19
	1.42	1.20	1.40
	1.12	0.93	1.24
Promedio	1.31	1.02	1.28
Densidad aparente	0.50	0.54	0.48
	0.50	0.56	0.50
	0.51	0.54	0.49
Promedio	0.50	0.55	0.49
Densidad compactada	0.57	0.59	0.59
	0.56	0.61	0.61
	0.57	0.61	0.61
Promedio	0.57	0.60	0.60
Índice de Hausner	0.88	0.92	0.81
	0.90	0.92	0.83
	0.90	0.89	0.80
Promedio	0.89	0.91	0.81
Índice de Carr	12.50	8.11	19.05
	10.00	8.33	17.50
	10.26	10.81	19.51
Promedio	10.92	9.08	18.69

Ángulo de reposo	
20 - 25	Excelente
25 - 30	Bueno
30 - 40	Regular
> 40	Pobre

Índice de Hausner	
< 1.25	Flujo Excelente
1.25 - 1.5	Buen flujo
>1.5	Pobre flujo

Índice de Compresibilidad	
5 _ 12	Excelente
12 _ 16	Bueno
18 _ 22	Regular
23 _ 35	Pobre
33 _ 38	Muy Pobre
> 40	No fluye

Tabla 17. Resultados de las pruebas reológicas para el polvo sin ningún tratamiento previo.

	S. edule Dulce			S. edule Amargo			Mezcla 80:20		
	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)
Ángulo de reposo	20	8.7	1.5	20	9.5	1.7	20	9	1.6
	20	9.5	1.3	20	9.5	1.5	20	9	1.5
	20	8	1.8	20	9	1.5	20	9	1.7
	Peso (g)	Tiempo (s)		Peso (g)	Tiempo (s)	-	Peso (g)	Tiempo (s)	-
Velocidad de flujo	20	1.26	-	20	1.03	-	20	1.19	-
	20	1.27	-	20	0.95	-	20	1.24	-
	20	1.3	-	20	0.98	-	20	1.25	-
	Peso (g)	Volumen (mL)		Peso (g)	Volumen (mL)	-	Peso (g)	Volumen (mL)	-
Densidad aparente	20	42	-	20	39	-	20	40	-
	20	42	-	20	40	-	20	40	-
	20	43	-	20	40	-	20	41	-
Densidad compactada	20	39	-	20	34	-	20	37	-
	20	38	-	20	34	-	20	37	-
	20	39	-	20	35	-	20	38	-

Tabla 18. Resultados obtenidos para calcular propiedades de flujo del polvo de mayor proporción retenido de *S. edule* Dulce (Malla 40) y *S. edule* Amargo (malla 20)

	S. edule Dulce	S. edule Amargo	Mezcla 80:20
Ángulo de reposo	19.03	19.69	19.69
	15.31	17.53	17.53
	24.23	18.43	18.43
Promedio	19.52	18.55	18.55
Velocidad de flujo	1.26	1.03	1.19
	1.27	0.95	1.24
	1.30	0.98	1.25
Promedio	1.28	0.99	1.23
Densidad aparente	0.48	0.51	0.50
	0.48	0.50	0.50
	0.47	0.50	0.49
Promedio	0.47	0.50	0.50
Densidad compactada	0.51	0.59	0.59
	0.53	0.59	0.59
	0.51	0.57	0.57
Promedio	0.52	0.58	0.58
Índice de Hausner	0.93	0.87	0.85
	0.90	0.85	0.85
	0.91	0.88	0.85
Promedio	0.91	0.87	0.85
Índice de Carr	7.14	12.82	15.00
	9.52	15.00	15.00
	9.30	12.50	14.63
Promedio	8.66	13.44	14.88

Ángulo de reposo	
20 - 25	Excelente
25 - 30	Bueno
30 - 40	Regular
> 40	Pobre

Índice de Hausner	
< 1.25	Flujo Excelente
1.25 - 1.5	Buen flujo
>1.5	Pobre flujo

Índice de Compresibilidad	
5 _ 12	Excelente
12 _ 16	Bueno
18 _ 22	Regular
23 _ 35	Pobre
33 _ 38	Muy Pobre
> 40	No fluye

Tabla 19. Resultados de las pruebas reológicas utilizando el polvo de mayor proporción retenido de *S. edule* Dulce (Malla 40) y *S. edule* Amargo (malla 20)

7.8 Molienda

Después de hacer un proceso de molienda con un molino de corte ^{18, 20} y después de varias pruebas con las cápsulas, se decidió utilizar el polvo retenido en la malla número 100, el cual es considerado un polvo semigrueso de acuerdo a la Farmacopea ²⁰ es decir > 0.149 mm y < 0.250 mm, esto debido a que un polvo más fino como el de malla 200 (< 0.149 mm) es muy poco denso, por lo tanto sus propiedades reológicas se ven afectadas ya que no fluye y no se puede utilizar la dosis recomendada que son 250 mg por cápsula.

Después de reducir el tamaño de partícula y obtener el tamaño de partícula deseado, se le hizo un análisis reológico al polvo y los resultados se muestran en las Tablas 20 y 21 las cuales son excelentes, sin embargo, se pudo observar que una pequeña proporción del polvo queda adherida a la pared del embudo de aluminio, razón por la cual se buscó principalmente un excipiente que tuviera la función de agente antifricción y diluyente para utilizar cápsulas del tamaño 00.

	S. edule Amargo 100			S. edule Dulce 100		
	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)
Ángulo de reposo	20.00	8.50	1.40	20.00	9.00	1.20
	20.00	8.50	1.30	20.00	9.00	1.10
	20.00	8.50	1.20	20.00	9.50	1.20
	Peso (g)	Tiempo (s)		Peso (g)	Tiempo (s)	-
Velocidad de flujo	20.00	1.00	-	20.00	0.93	-
	20.00	0.93	-	20.00	0.94	-
	20.00	1.12	-	20.00	0.90	-
	Peso (g)	Volumen (mL)		Peso (g)	Volumen (mL)	-
Densidad aparente	20.00	38.00	-	20.00	36.00	-
	20.00	38.00	-	20.00	36.00	-
	20.00	39.00	-	20.00	36.00	-
Densidad compactada	20.00	35.00	-	20.00	33.00	-
	20.00	34.00	-	20.00	33.00	-
	20.00	35.00	-	20.00	33.00	-

Tabla 20. Resultados obtenidos para calcular propiedades de flujo de los polvos retenidos en la malla 100

	S. edule Amargo 100	S. edule Dulce 100
Ángulo de reposo	18.23	14.93
	17.01	13.74
	15.77	14.18
Promedio	17.00	14.28
Velocidad de flujo	1.00	0.93
	0.93	0.94
	1.12	0.90
Promedio	1.02	0.92
Densidad aparente	0.53	0.56
	0.53	0.56
	0.51	0.56
Promedio	0.52	0.56
Densidad compactada	0.57	0.61
	0.59	0.61
	0.57	0.61
Promedio	0.58	0.61
Índice de Hausner	0.92	0.92
	0.89	0.92
	0.90	0.92
Promedio	0.90	0.92
Índice de Carr	7.89	8.33
	10.53	8.33
	10.26	8.33
Promedio	9.56	8.33

Ángulo de reposo	
20 - 25	Excelente
25 - 30	Bueno
30 - 40	Regular
> 40	Pobre

Índice de Hausner	
< 1.25	Flujo Excelente
1.25 - 1.5	Buen flujo
>1.5	Pobre flujo

Índice de Compresibilidad	
5 _ 12	Excelente
12 _ 16	Bueno
18 _ 22	Regular
23 _ 35	Pobre
33 _ 38	Muy Pobre
> 40	No fluye

Tabla 21. Resultados de pruebas reológicas de los polvos retenidos en la malla 100

7.9 Estudios de compatibilidad de los excipientes.

Se hizo una comparación entre el termograma obtenido de la mezcla de *S. edule* 80:20 dulce:amargo, el termograma obtenido de cada uno de los excipientes y el termograma obtenido de las mezclas binarias obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22. Resultados del análisis de las mezclas binarias de excipientes con la mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo.

EXCIPIENTE + MEZCLA DE POLVO 80:20 (dulce:amargo)	RESULTADO
Celulosa microcristalina	Sin interacción.
Lactosa	Interacción.
Estearato de Magnesio	Interacción.
Ácido esteárico	Interacción.
Talco	Sin interacción.
PVP 97	Sin interacción.
Dióxido de silicio coloidal	Interacción.
Almidón	Sin interacción.

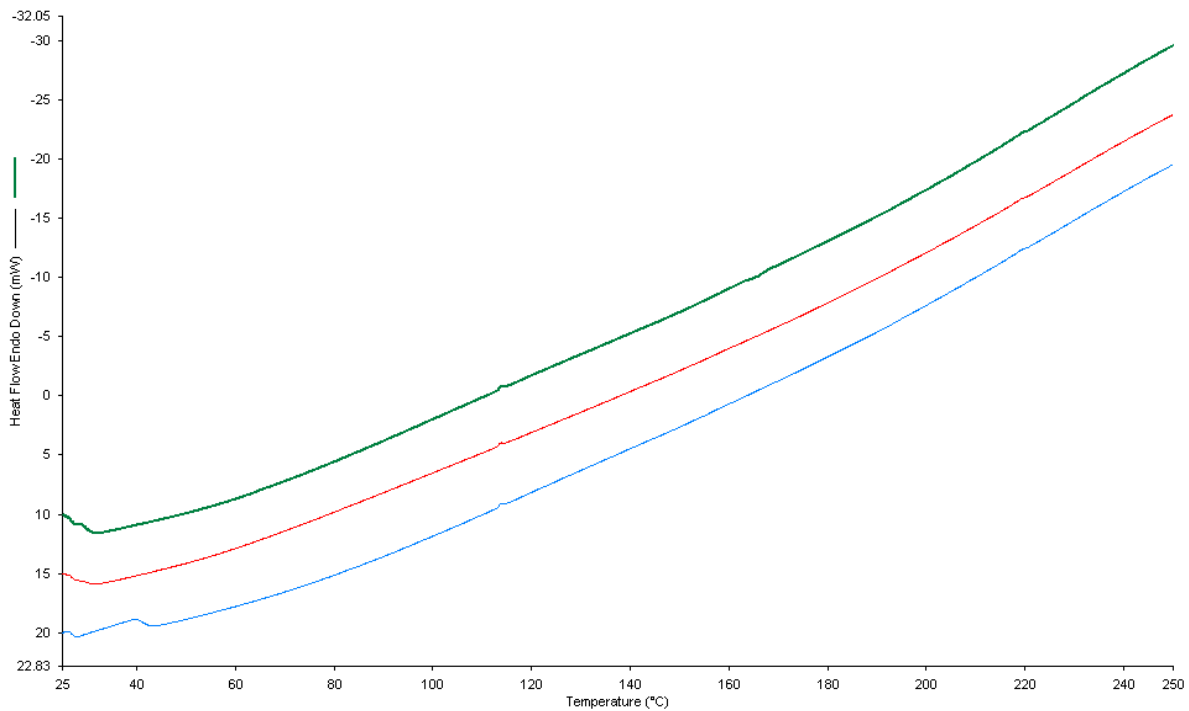
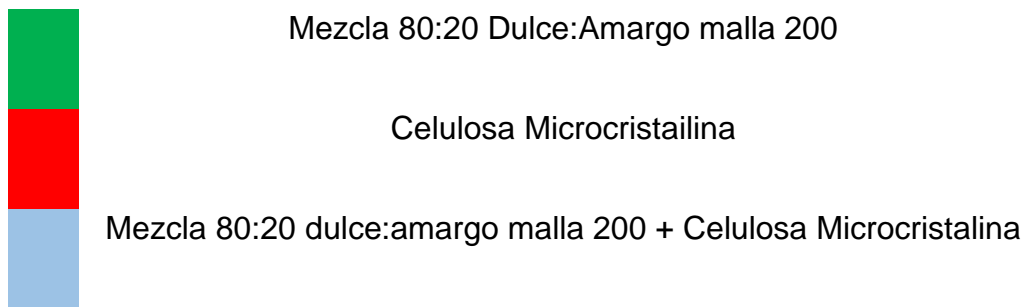


Figura 48. Termograma de muestras con celulosa microcristalina.



En la figura 48 se puede apreciar que no aparece ninguna endoterma en los termogramas, únicamente a 40 ° C se aprecia un cambio debido a la humedad, pero no hay interacción entre este excipiente y la mezcla de polvos.

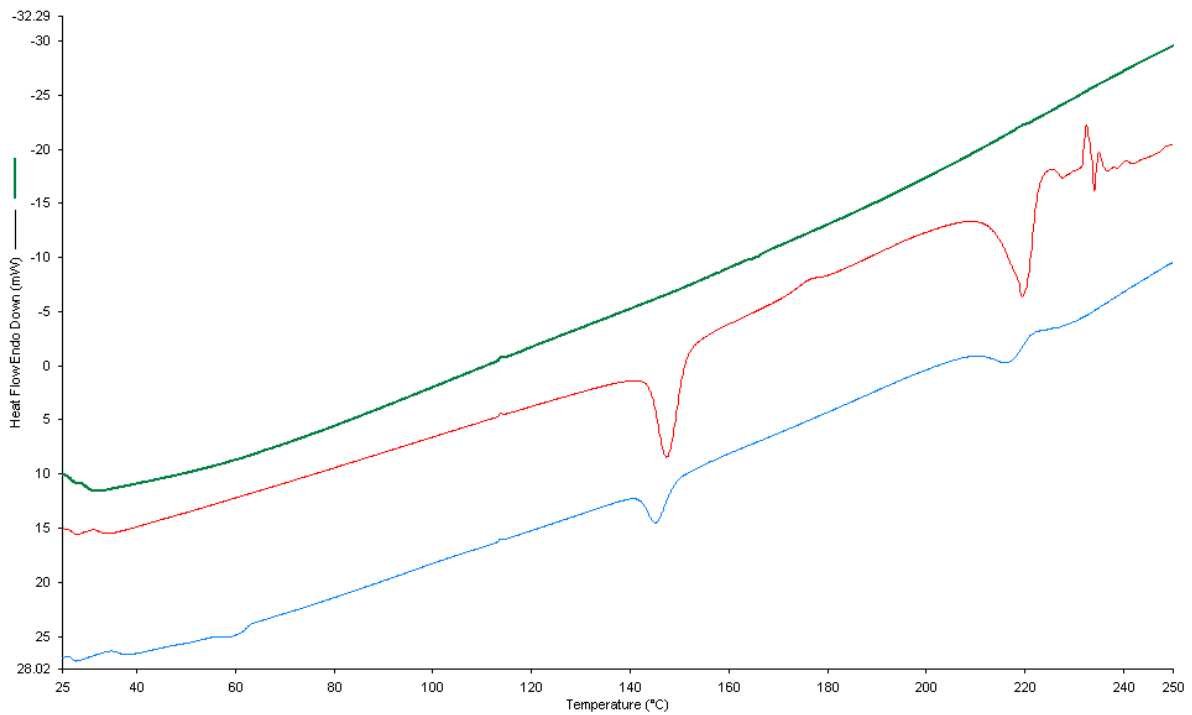
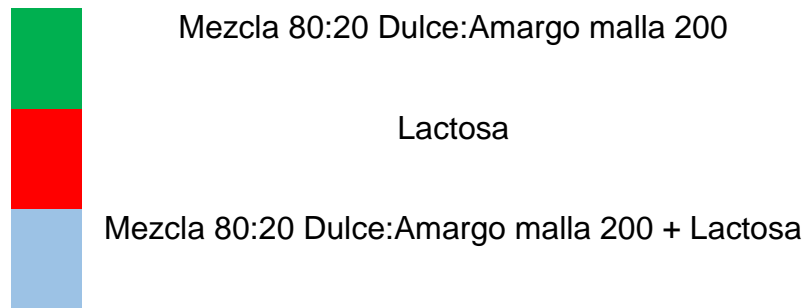


Figura 49. Termograma de muestras con lactosa.



Hay un cambio en las endotermas ya que aparece un pico en 145 °C y otro en 205 °C aproximadamente en el termograma de la muestra de lactosa y la mezcla binaria tiene un comportamiento diferente, por lo que existe interacción. (Figura 49)

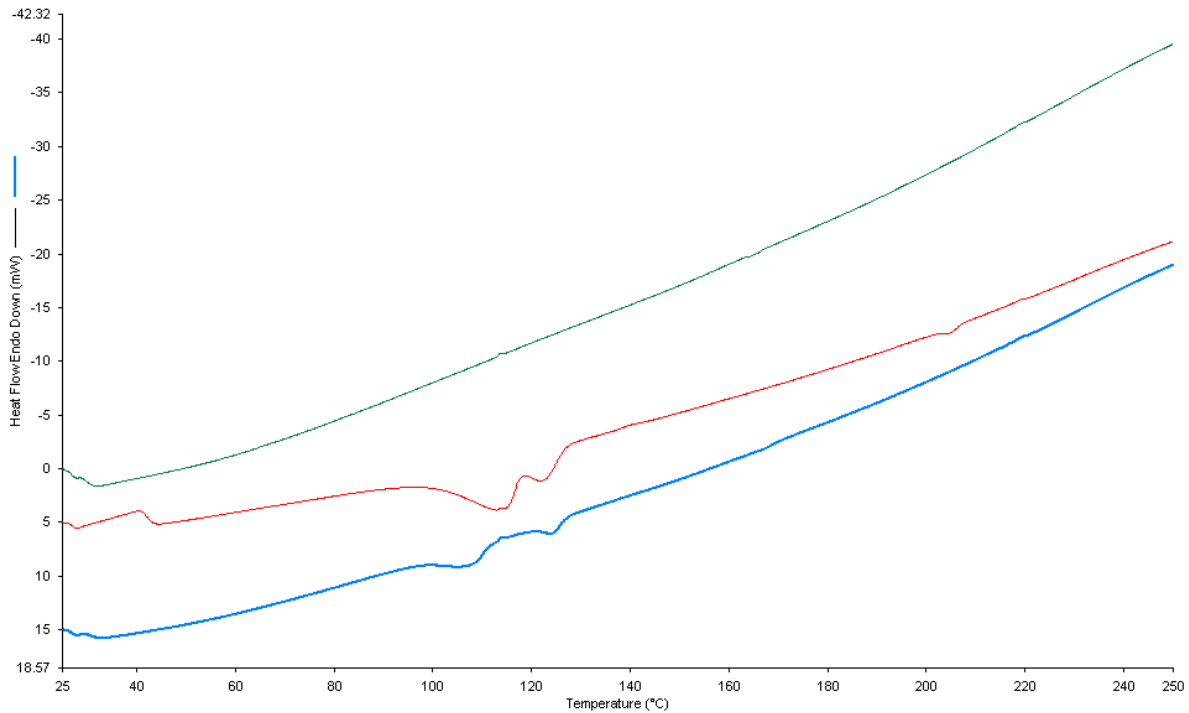
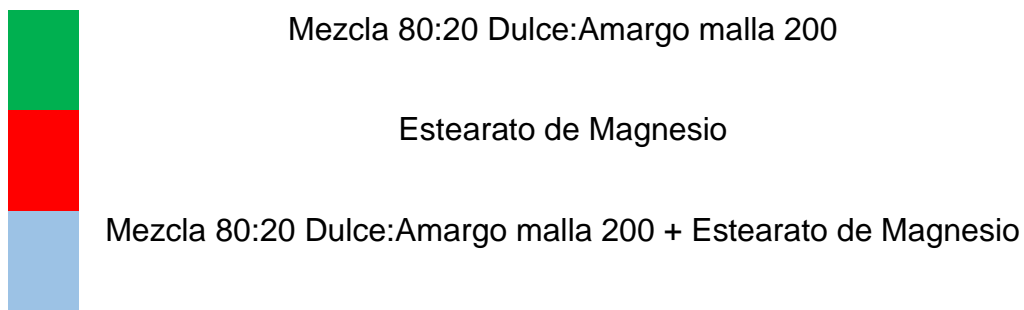


Figura 50. Termograma de muestras con estearato de magnesio



Hay dos señales que aparecen en el termograma del estearato de magnesio entre 119 – 125 °C aproximadamente y en el termograma de la mezcla binaria tiene un comportamiento diferente ya que estas dos señales se separan y hay un cambio en la pendiente por lo tanto existe una interacción. (Figura 50)

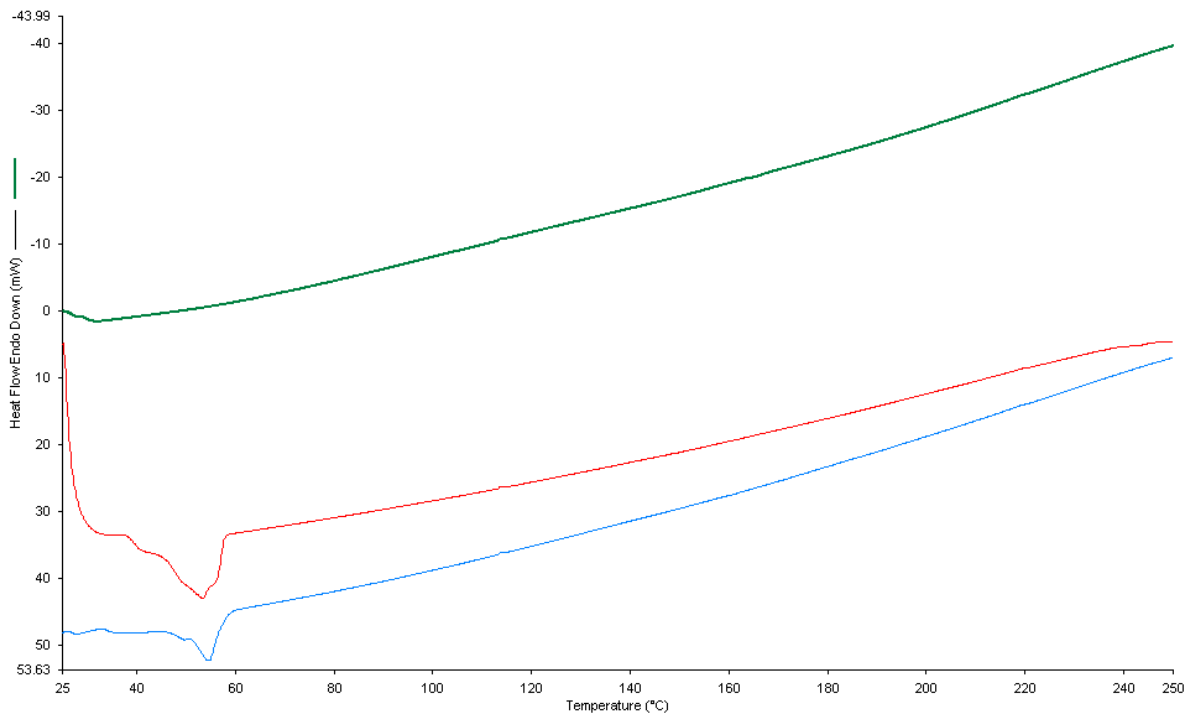
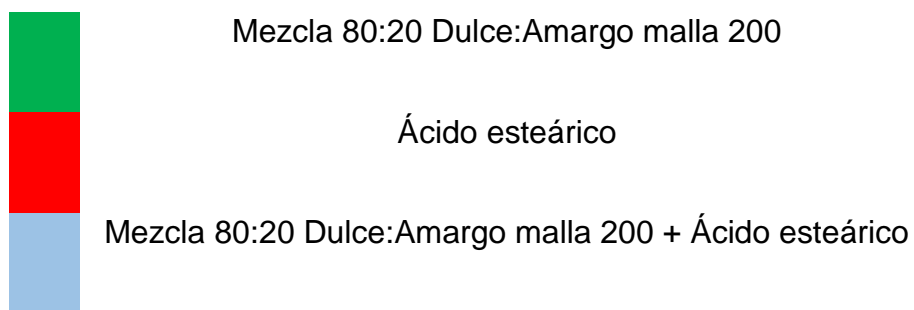


Figura 51. Termograma de muestras con ácido esteárico.



En la figura 51 se puede observar que hay un cambio en la línea base, y que la señal que aparece a los 50 °C aproximadamente en el termograma del ácido esteárico es diferente al de la mezcla binaria, por lo que hay interacción.

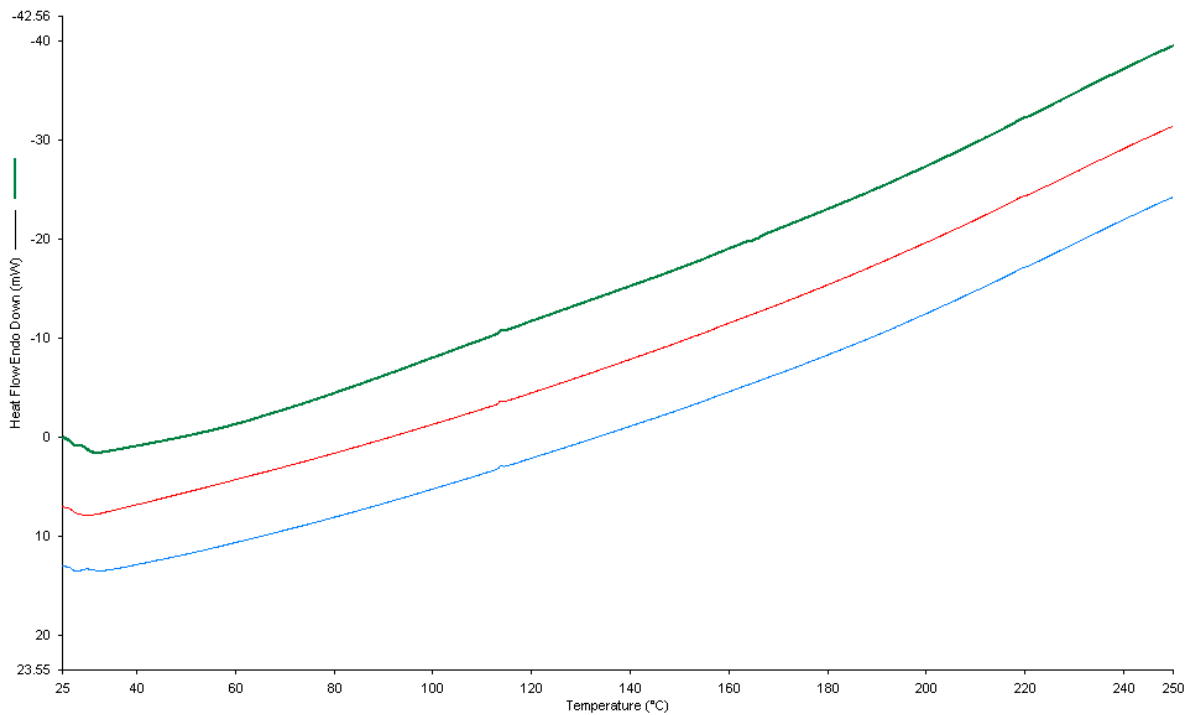
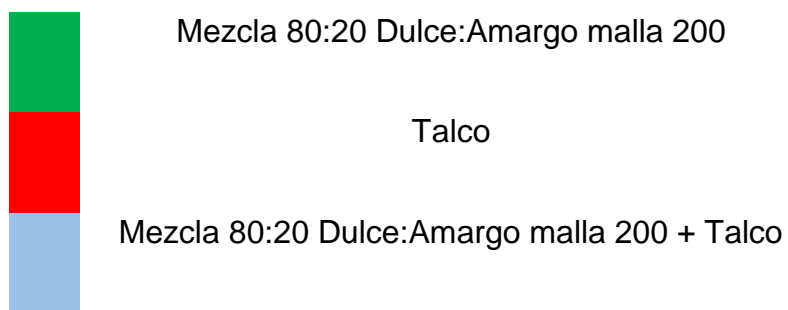


Figura 52. Termograma de muestras con talco



En la figura 52 no se observa ninguna endoterma en los termogramas por lo que no existe interacción.

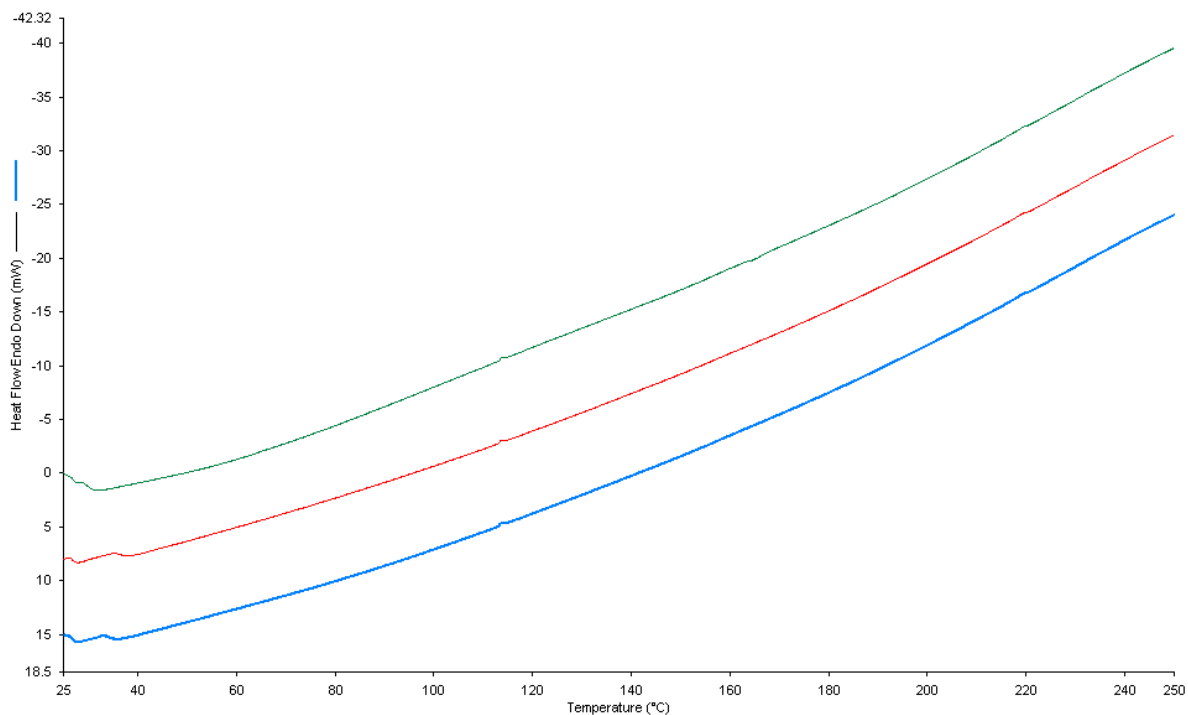
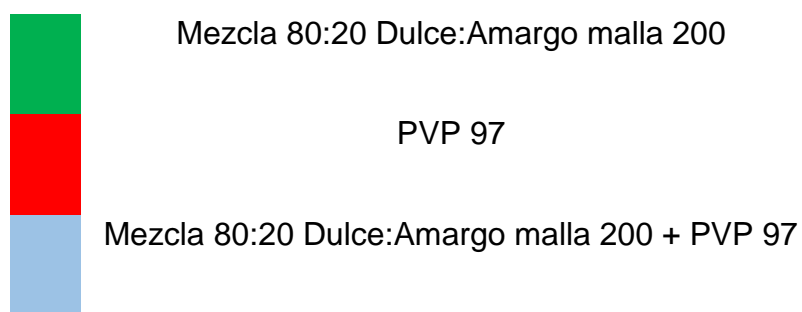


Figura 53. Termograma de muestras con PVP 97



En la figura 53 no aparece ninguna endoterma o cambio en el termograma, por lo que se puede decir que no hay interacción entre este excipiente y la mezcla de polvos.

Con base en los resultados de las pruebas de compatibilidad con los excipientes se propusieron tres formulaciones con el polvo retenido en la malla número 100.

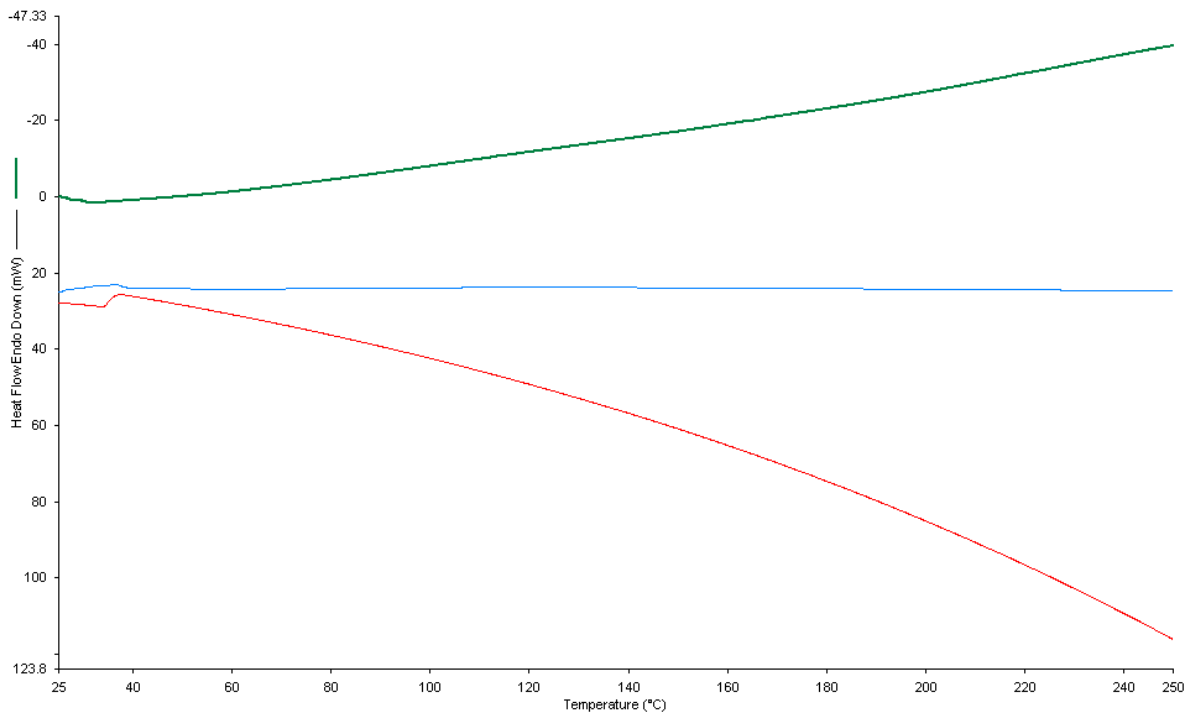
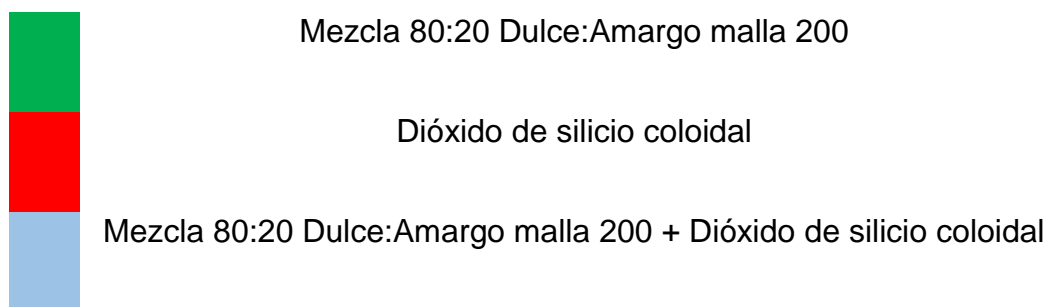


Figura 54. Termograma de muestras con Dióxido de silicio coloidal



En la figura 54 se muestra que todos los termogramas son diferentes entre sí, el estándar de dióxido de silicio coloidal se muestra como una línea recta y la mezcla binaria más dióxido de silicio coloidal muestra un cambio en la línea base y no es parecido con el termograma de la mezcla de polvos 80:20 ni con el estándar de ese excipiente, por lo tanto existe interacción.

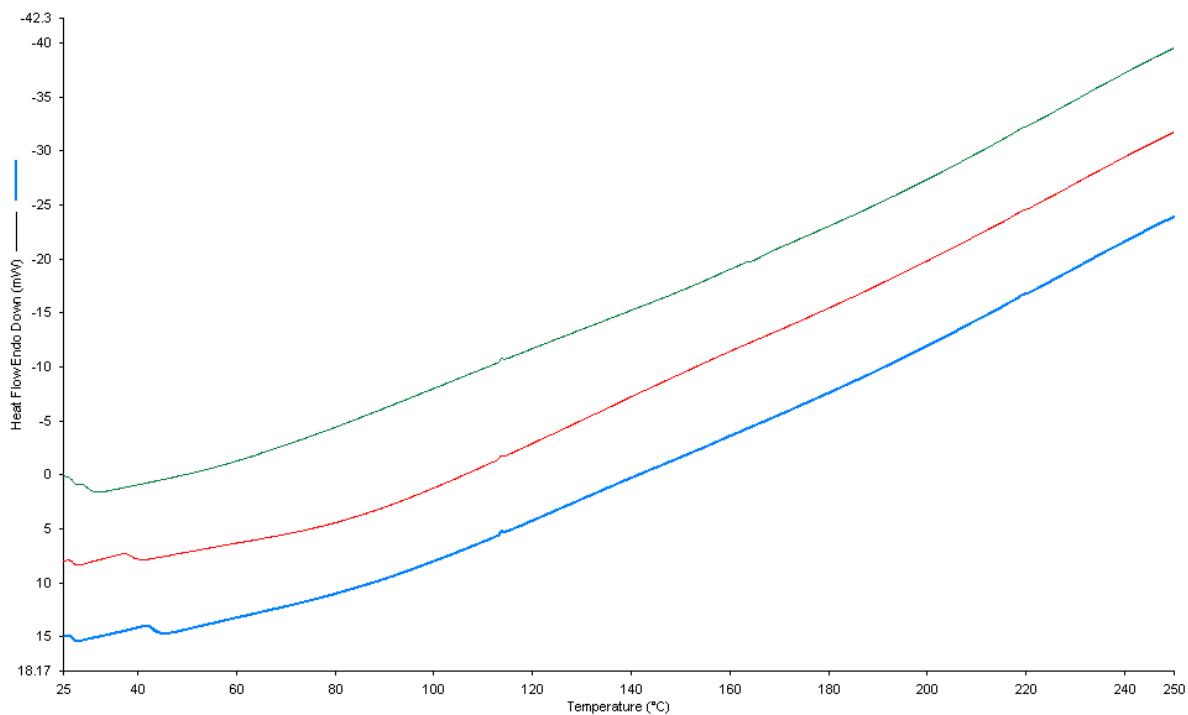
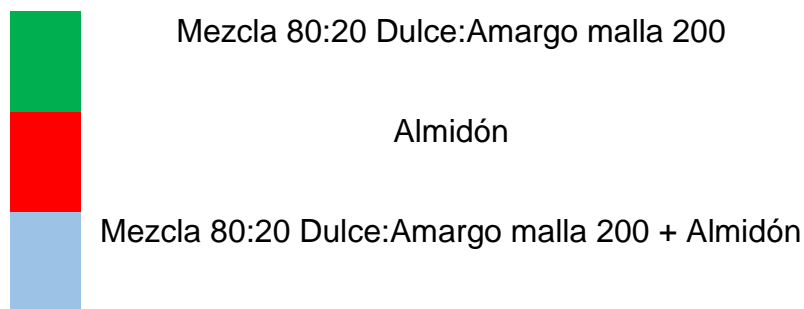


Figura 55. Termograma de muestras con Almidón



En la figura 55 se muestra que se tienen tres termogramas parecidos entre sí, tanto para la referencia de almidón como para la mezcla se muestra un cambio en 40 °C aproximadamente que podría tratarse de la humedad contenida en el almidón, pero no se muestra ninguna endoterma y los termogramas son parecidos a la referencia de la mezcla de polvos, por lo que no existe interacción con éste excipiente

7.10 Prueba de humedad a excipientes

La humedad es un factor importante que puede modificar las propiedades de flujo del polvo^{18, 19, 20} y no es recomendable encapsular compuestos que tengan una humedad alta porque podría provocar la fragilidad de la cápsula.⁴⁷ Sin embargo, hay excipientes que se caracterizan por un contenido específico de humedad en condiciones ambientales tal es el caso de la celulosa microcristalina y el almidón de maíz.^{29, 48} A continuación, en la Tabla 23, se muestran los resultados de la prueba de humedad que se realizó a los excipientes que no presentaron interacción con el polvo.

Tabla 23. Resultados de la prueba de humedad de los diferentes excipientes que no presentaron interacción con el polvo.

Excipiente	% Humedad
Celulosa HD90	5.19%
PVP 96	0.51%
Talco	0.10%
Almidón	11.05%

7.11 Propuestas de formulaciones

Se obtuvieron 3 propuestas de formulaciones y se muestran en la Tabla 24:

Tabla 24. Propuestas de formulaciones

Formulación 1		Formulación 2		Formulación 3	
Mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo	500 mg	Mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo	500 mg	Mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo	500 mg
Celulosa	30 mg	Celulosa	30 mg	PVP 97	30 mg
Talco	2.5 mg	Almidón	2.5 mg	-	-

Como se mencionó en las pruebas de reología del polvo utilizado, un problema fue la adherencia de una pequeña cantidad de polvo a la superficie del embudo de acero inoxidable, por lo tanto, se buscaron principalmente excipientes que actuaran como agentes antiadherentes y que evidentemente no tuvieran interacción con el polvo. La celulosa microcristalina actúa como agente antiadherente en una proporción del 5 – 20 %. El talco actúa como un agente lubricante para evitar la fricción entre el metal y el polvo. Así mismo, el almidón de maíz en concentraciones bajas actúa como agente lubricante y antiadherente.^{29,46,49} Se utilizó un excipiente coprocesado llamado PVP 97 el cual es 97% carbonato de calcio recubierto de 3% de PVP en pequeñas esferas, este excipiente funciona como agente antifricción debido a su naturaleza (esferas) y no es necesario añadir otro excipiente para que cumpla su función.

7.12 Liberación de fórmula

Para liberar la formulación y proceder a encapsular se realizaron pruebas reológicas a cada una de las fórmulas finales, los cuales se muestran en las Tablas 26 y 27, así como, un análisis por calorimetría diferencial de barrido para comprobar que no existe interacción entre las formulaciones finales y la cápsula, los resultados se muestran en la figura 57.

Mientras que, en la Tabla 25, se puede observar en los resultados que las propiedades de flujo cambiaron de regular a excelente con la adición de excipientes, por lo que esto fue un parámetro importante para proceder a la encapsulación ya que, tener excelentes propiedades de flujo ayuda a tener una dosis uniforme en cada una de las cápsulas.¹⁹

Tabla 25. Comparación de resultados de las propiedades de flujo de los polvos

Muestra	Resultado del ángulo de reposo	Resultado de índice de Compresibilidad	Resultado de índice de Hausner
Mezcla 80:20 sin ningún tratamiento	19.11	18.69	0.81
Polvo <i>S. edule</i> Amargo retenido en malla 100	18.23	3.56	0.30
Polvo <i>S. edule</i> Dulce retenido en malla 100	14.28	8.33	0.92
Formulación 1	7.26	10.07	0.30
Formulación 2	9.97	9.13	0.91
Formulación 3	8.66	9.49	0.91

Ángulo de reposo	
20 - 25	Excelente
25 - 30	Bueno
30 - 40	Regular
> 40	Pobre

Índice de Hausner	
< 1.25	Flujo Excelente
1.25 - 1.5	Buen flujo
>1.5	Pobre flujo

Índice de Compresibilidad	
5 _ 12	Excelente
12 _ 16	Bueno
18 _ 22	Regular
23 _ 35	Pobre
33 _ 38	Muy Pobre
> 40	No fluye

	Mezcla + Celulosa 6% + Almidón 0.5%			Mezcla + Celulosa 6% + Talco 0.5%			Mezcla + PVP 97		
	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Altura (cm)
Ángulo de reposo	4.00	6.50	0.50	3.40	6.50	0.60	5.00	7.00	0.40
	4.00	7.00	0.40	3.40	7.00	0.50	5.00	7.00	0.60
	4.00	7.00	0.40	3.40	7.00	0.70	5.00	7.00	0.60
	Peso (g)	Tiempo (s)		Peso (g)	Tiempo (s)	-	Peso (g)	Tiempo (s)	-
Velocidad de flujo	4.00	0.43	-	3.40	0.35	-	5.00	0.41	-
	4.00	0.40	-	3.40	0.36	-	5.00	0.36	-
	4.00	0.45	-	3.40	0.34	-	5.00	0.35	-
	Peso (g)	Volumen (mL)		Peso (g)	Volumen (mL)	-	Peso (g)	Volumen (mL)	-
Densidad aparente	4.00	7.80	-	3.40	6.90	-	5.00	9.90	-
	4.00	7.40	-	3.40	7.00	-	5.00	9.80	-
	4.00	7.60	-	3.40	6.90	-	5.00	9.80	-
Densidad compactada	4.00	6.90	-	3.40	6.30	-	5.00	9.00	-
	4.00	6.70	-	3.40	6.30	-	5.00	8.80	-
	4.00	6.90	-	3.40	6.30	-	5.00	8.90	-

Tabla 26. Resultados obtenidos para calcular propiedades de flujo de las propuestas de formulaciones

	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3
Ángulo de reposo	8.75	10.46	6.52
	6.52	8.13	9.73
	6.52	11.31	9.73
Promedio	7.26	9.97	8.66
Velocidad de flujo	0.43	0.35	0.41
	0.40	0.36	0.36
	0.45	0.34	0.35
Promedio	0.43	0.35	0.37
Densidad aparente	0.51	0.49	0.51
	0.54	0.49	0.51
	0.53	0.49	0.51
Promedio	0.53	0.49	0.51
Densidad compactada	0.58	0.54	0.56
	0.60	0.54	0.57
	0.58	0.54	0.56
Promedio	0.59	0.54	0.56
Índice de Hausner	0.88	0.91	0.91
	0.91	0.90	0.90
	0.91	0.91	0.91
Promedio	0.90	0.91	0.91
Índice de Carr	11.54	8.70	9.09
	9.46	10.00	10.20
	9.21	8.70	9.18
Promedio	10.07	9.13	9.49

Ángulo de reposo	
20 - 25	Excelente
25 - 30	Bueno
30 - 40	Regular
> 40	Pobre

Índice de Hausner	
< 1.25	Flujo Excelente
1.25 - 1.5	Buen flujo
>1.5	Pobre flujo

Índice de Compresibilidad	
5 _ 12	Excelente
12 _ 16	Bueno
18 _ 22	Regular
23 _ 35	Pobre
33 _ 38	Muy Pobre
> 40	No fluye

Tabla 27. Resultados de pruebas reológicas de las propuestas de formulaciones.

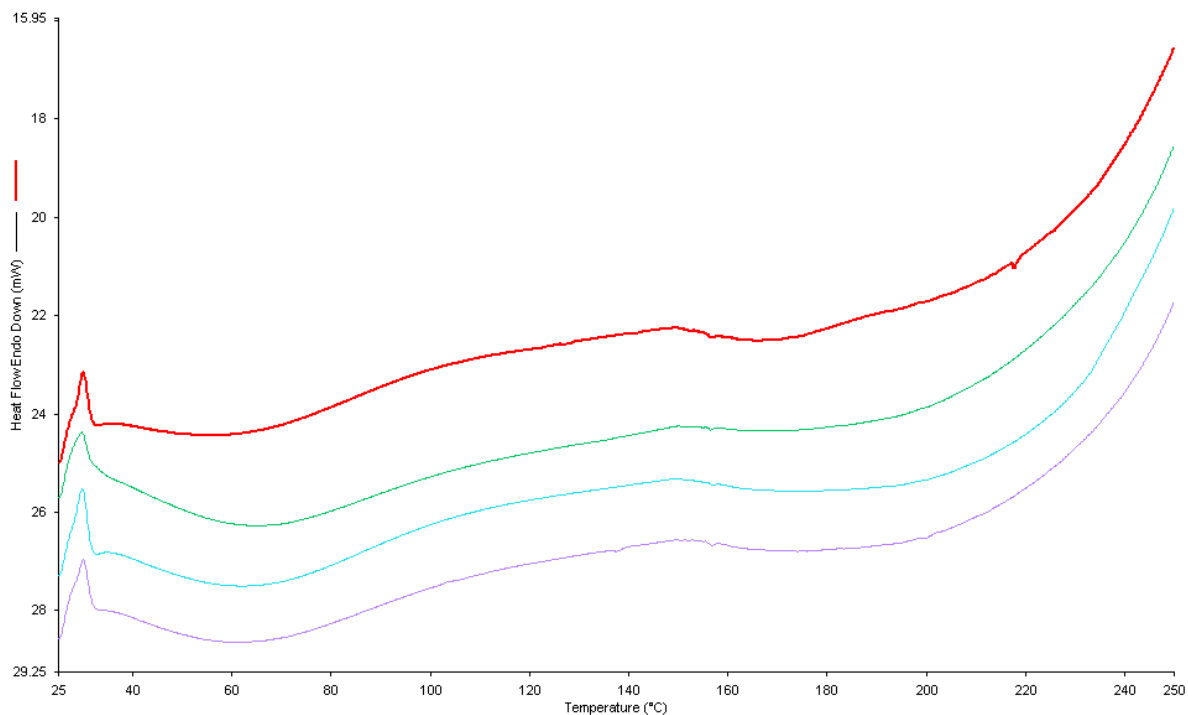
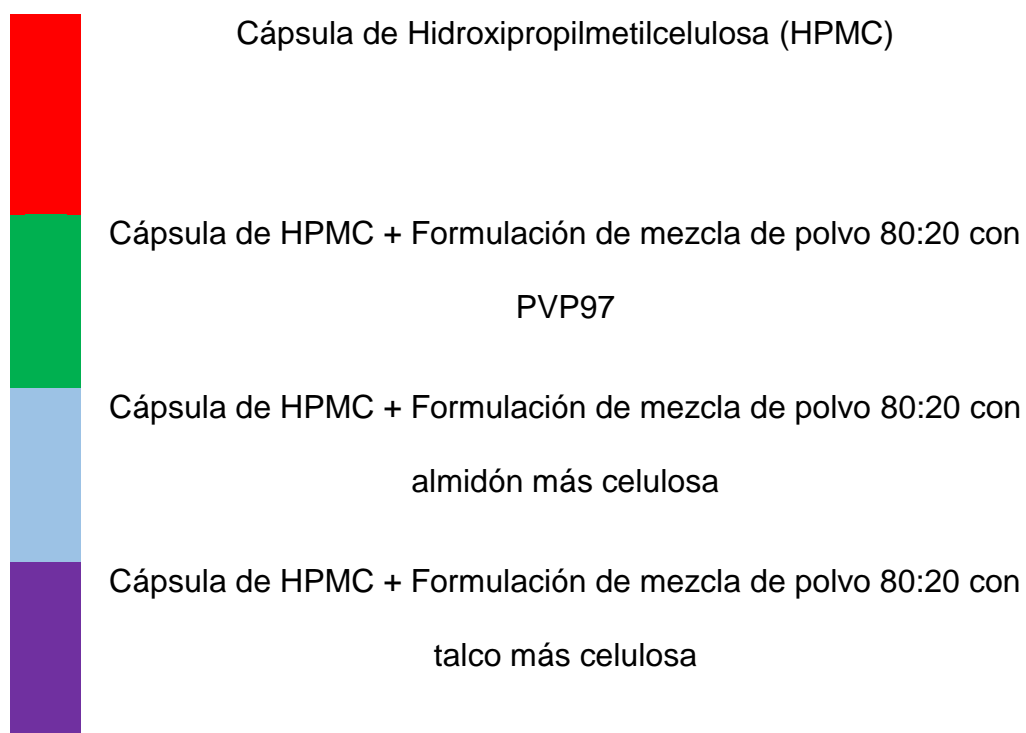


Figura 56. Termograma de formulaciones con cápsulas de HPMC



En la figura 56, se observa que los 4 termogramas son similares, los 3 termogramas de las formulaciones más la cápsula son similares al termograma de sólo la cápsula de HPMC por lo que no existe interacción entre las formulaciones y la cápsula.

7.13 Encapsulación

Se utilizaron cápsulas de hidroxipropilmetilcelulosa (Vcaps®Plus) ya que tienen un contenido menor de humedad en comparación con las cápsulas de gelatina dura, y son recomendables para productos botánicos así como ingredientes higroscópicos, el polímero es resistente en condiciones de calor y de humedad extremas.^{38, 47, 48, 50}

Las 3 formulaciones propuestas se encapsularon como se muestra en la Tabla 28 y en la Tabla 29 se muestra como se encapsularon los placebos:

Tabla 28. Encapsulación de las formulaciones finales.

Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
532.5 mg de la mezcla de polvos 80:20 con los excipientes	532.5 mg de la mezcla de polvos 80:20 con los excipientes	530 mg de la mezcla de polvos 80:20 con los excipientes

Tabla 29. Encapsulación de los placebos de cada una de las formulaciones finales.

Placebo 1	Placebo 2	Placebo 3
32.5 mg de la mezcla de celulosa 6% + Talco 0.5%	32.5 mg de la mezcla de celulosa 6% + Almidón 0.5%	30 mg de PVP 97

El llenado para ambos casos se realizó de forma manual y se fabricaron lotes de 30 cápsulas cada uno.

7.14 Ciclaje

Para el ciclaje se tomaron 10 cápsulas y se colocaron en frascos de polietileno de alta densidad con tapa de seguridad. Para cada uno de las formulaciones propuestas y de los placebos. Los resultados se muestran en la Tabla 30.

Tabla 30. Resultados de la prueba para envase vacío y cápsulas vacías

	40 °C
Blanco: Envase vacío	Sin cambios
Blanco: Envase con 10 cápsulas	Sin cambios

En la Tabla 31 y la Tabla 32 se muestran los resultados de la prueba del ciclaje en las diferentes condiciones utilizadas, para las formulaciones y para los placebos.

Tabla 31. Resultados de la prueba de ciclaje para formulaciones

	Control	40 °C	Refrigeración
FORMULACIONES			
Mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo + Celulosa HD 90 6% + Talco 0.5%	Sin cambios	Se observó polvo adherido a la capsula y conglomerados de polvo	Se observó polvo adherido a la cápsula, conglomerados de polvo y el flujo fue diferente al control
Mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo + Celulosa HD 90 6% + Almidón 0.5%	Sin cambios	Se observó que el flujo del polvo no es igual al control	Se observaron conglomerados de polvo.
Mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo + PVP 97 6%	Sin cambios	Se observó que el flujo es diferente al control en la mayoría de las cápsulas	Se observó adherido a las paredes en la mayoría de las cápsulas y conglomerados

Tabla 32. Resultados de la prueba de ciclaje para placebos

	Control	40 °C	Refrigeración
PLACEBOS			
Placebo de formulación 1	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios
Placebo de formulación 2	Sin cambios	Se observó menos polvo adherido en comparación al control	Sin cambios
Placebo de formulación 3	Sin cambios	Sin cambios	Sin cambios

Los cambios registrados en las Tablas 31 y 32 fueron únicamente por inspección visual. Se puede observar que con los excipientes que tienen cierta humedad se forman conglomerados o se adhiere polvo a la cápsula. Se hicieron pruebas de humedad a las formulaciones antes de ser encapsuladas, a las formulaciones después del ciclaje y a las muestras de control después de 144 horas y los resultados se muestran en la Tabla 33.

7.15 Prueba de humedad a formulaciones

Tabla 33. Resultado de pruebas de humedad a formulaciones.

	Humedad
Mezcla + Celulosa HD 90 6% + Talco 0.5% Sin encapsular (2 semanas en desecador)	5.29%
Mezcla + Celulosa HD 90 6% + Almidón 0.5% Sin encapsular (2 semanas en desecador)	5.35%
Mezcla + PVP 6% Sin encapsular (2 semanas en desecador)	4.90%
Mezcla + Celulosa HD 90 6% + Talco 0.5% (Después del ciclaje)	5.85%
Mezcla + Celulosa HD 90 6% + Almidón 0.5% (Después del ciclaje)	5.67%
Mezcla + PVP 6% (Después del ciclaje)	5.38%
Mezcla + Celulosa HD 90 6% + Talco 0.5% (Control)	6.36%
Mezcla + Celulosa HD 90 6% + Almidón 0.5% (Control)	6.29%
Mezcla + PVP 6% (Control)	5.72%

El porcentaje de humedad de cada uno de los excipientes y de cada uno de los polvos por separado es variable. Se observa que en el caso de la mezcla de polvos de *S. edule* la humedad se puede reducir hasta un 1.97%. Sin embargo, en la Tabla anterior es evidente que la mezcla de polvos de *S. edule* con excipientes aún dentro de un desecador tiende a tener un aumento en el porcentaje de humedad; no es posible secar la mezcla de polvos de *S. edule* con los excipientes debido a que se pueden modificar sus propiedades reológicas como es el caso de la celulosa y el almidón de maíz.⁵¹ En el caso de la celulosa microcristalina se ha reportado que tiene cambios importantes en la fluidez cuando la humedad es menor al 3 % lo que puede impactar en la calidad final del producto y el almidón de maíz tiene variaciones en la fluidez de acuerdo a el contenido de humedad es posible someterlos a un proceso de secado pero involucraría hacer una operación unitaria más.⁵¹ Por todo lo anterior, se recomienda entonces, hacer la encapsulación inmediatamente después del proceso de secado así como extender el tiempo de secado y colocar algún desecante de absorción física en el envase primario como puede ser: silica gel o un tamiz molecular.⁴⁴ La silica gel es uno de los desecantes más utilizados en la industria farmacéutica, es una forma amorfa de la silica altamente porosa y con gran área superficial, el mecanismo por el cual la silica gel absorbe humedad es una absorción superficial y una condensación capilar. La silica gel funciona bien a temperatura ambiente, pero puede disminuir su rango de absorción en temperaturas altas.^{43, 44}

Un tamiz molecular es un material cristalino como la zeolita, con una gran cantidad de poros con un tamaño específico que permite separar un tipo de moléculas de

otras. Los tamices moleculares están disponibles con diferentes tamaños de poros como 3, 4, 5 y 10 Å. Un tamiz molecular de 3 Å puede absorber selectivamente moléculas de agua mientras que uno de 4 Å puede absorber incluso nitrógeno y oxígeno además del agua. Los tamices moleculares pueden absorber agua incluso en un ambiente con una baja concentración de ésta, lo que permite crear un ambiente con una baja humedad usando cantidades pequeñas del material.⁵²

7.16 Proyecto de marbete

Debido a que se hizo un estudio de preformulación y se conoce el material de envase se hizo un proyecto de marbete debido a que es un producto sin registro sanitario y debería tener un proyecto de marbete de acuerdo a la NOM-072-SSA1-2012 para dar información al prescriptor y que el medicamento tenga un buen uso. Sin embargo, se debe resaltar que es un producto para uso de estudios clínicos. En la Figura 57 se muestra el proyecto de marbete de acuerdo a la NOM-072-SSA1-2012⁴⁵

Fórmula: Cada cápsula contiene:
Polvo de *Sechium edule nigrum spinosum* 290 / *Sechium edule nigrum spinosum* 354
(Chayote).....500 mg
Excipiente cbp..... 1 cápsula

Vía de administración: Oral.

Dosis: 1 cápsula dos veces al día.

Consérvese a no más de 30 °C y en un lugar seco.



Lot.: 000001
Fab.: May 2018

Hecho en México por: Laboratorio de Investigación Farmacéutica. Av. Batalla 5 de mayo s/n col. Ejército de Oriente, Iztapalapa, México D.F.

Figura 57. Proyecto de marbete

8. Conclusión

Se obtuvieron tres formulaciones de cápsulas de *Sechium edule* y con base en los resultados obtenidos la formulación que utiliza PVP 97 podría considerarse la mejor opción, es decir 500 mg de la mezcla de polvos 80:20 dulce:amargo más 6% de PVP 97, debido a que se muestra sin cambios después de la prueba de ciclaje, su contenido de humedad es menor en comparación con otros excipientes y no debe pasar por un proceso de secado adicional, de igual forma se recomienda utilizar un tamiz molecular que pueda absorber tanto agua como moléculas de oxígeno debido a que los polvos en las condiciones experimentales podrían ser susceptibles tanto a hidrólisis como a oxidación y presenta cambios con temperatura y humedad altas. Las cápsulas de HPMC son una buena opción para ésta formulación debido a que su contenido de humedad es menor en comparación con las cápsulas de gelatina.

9. Referencias

1. Mahato R, Narang A. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery*. 3a ed. United States of America: CRC Press; 2018.
2. Arias T. *Glosario de Medicamentos: Desarrollo, Evaluación y Uso*. Panamá: Organización panaméricana de la salud; 1999.
3. Ross I. *Medicinal Plants of the World*. 1a ed. Estados Unidos: Humana Press Inc.; 2001.
4. Ross I. *Medicinal Plants of the World*. Vol. 2. 1ª ed. Estados Unidos: Humana Press Inc.; 2001.
5. Cadena J. Et al. *Production, Genetics, Postharvest Management and Pharmacological Characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw*. Fresh Produce. 2007; 1 (1), 41 – 53.
6. Saade R. *Chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw*. México: International Plant Genetic Resources Institute; 1996.
7. Lim T. K. *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*. Vol 2, Fruits. Estados Unidos: Springer Science; 2012.
8. Cadena Íñiguez J, Arévalo M. *El chayote*. Vol 1. México: Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México; 2010.
9. Shiga T, Goncalves F, Carpita N, Lajolo F, Cordenunsi B. *Polysaccharide composition of raw and cooked chayote (*Sechium edule* Sw) fruits and tuberous roots*. Carbohydrate Polymers. 2015, 130 (2015) 155-165.
10. Cadena Íñiguez J, Avendaño C, Cisneros V. *El chayote*. Vol. 2. México: Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México; 2010.

11. Sosa N. *Evaluación del efecto de Extractos de Chayote (Sechium edule (Jacq.) Swartz) sobre la proliferación y citotoxicidad en las líneas celulares tumorales L929 Y HeLa.* [Tesis]. México: UNAM; 2008.
12. Monroy M, Soto M, Cadena J, Santiago E, Ruiz L, Rosas H. *Bio-guided study of an alcoholic extract of Sechium edule (Jacq.) Swartz Fruits.* Colegio de Postgraduados. *Agrociencia*, vol. 43, núm. 8, diciembre 2009, 777-790.
13. Salazar S. et al. *Sechium edule (Jacq.) Swartz, a New Cultivar with Antiproliferative Potential in a Human Cervical Cancer HeLa Cell Line.* *Nutrients*. 2017; 9 (798).
14. Cadena Íñiguez J. *Caracterización Morfoestructural, Fisiológica, Química y Genética de Diferentes Tipos de Chayote (Sechium edule (Jacq.) Sw.).* [Tesis]. México: Colegio de Postgraduados; 2005.
15. Aguiñiga I, Cadena J, Santiago E, Cisneros V, Soto R, Arévalo M, Rivera A. *Extracto crudo de un Híbrido de Sechium edule, Método para su Extracción y su Uso para Formulaciones con Efecto Antineoplásico.* WO 2013/147578 A1. México: 2013. WIPO.
16. American Chemical Society. *SciFinder* [Internet]. American Chemical Society. Disponible en: <https://scifinder-cas.org.pbidi.unam.mx:2443/scifinder/login?TYPE=33554433&REALMOID=06-b7b15cf0-642b-1005-963a-830c809fff21&GUID=&SMAUTHREASON=0&METHOD=GET&SMAGENTNAME=-SM-nyDAxxEzxPSfolQ9F8lcvHzMJ%2bldEu1SyGsytO9pkC9W7cq%2f9%2f6Ra>

%2fxnw4uHSRtM&TARGET=-SM-

<http://scifinder.ecas.org/443/scifinder/>; 2018.

17. Kaya G, Melzing M. *Quantitative determination of cucurbitacin E and cucurbitacin I in homeopathic mother tincture of Gratiola officinalis L. by HPLC*. PubMed, Pharmazie 63: 851 – 853 (2008)
18. Aulton M. *Farmacia. La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. 2^a ed. Madrid, España: Elsevier; 2004.
19. Gibson M. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation. A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form*. 1^a ed. New York, USA: informa healthcare; 2007.
20. Lachman L, Lieberman H, Kaning J. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. 2^{da} ed. United States of America; 1976.
21. Florence A, Attwood D. *Physicochemical Principles of Pharmacy in Manufacture, Formulation and Clinical Use*. 6^a ed. Pharmaceutical Press. United Kingdom; 2016.
22. Craig D, Reading M. *Thermal Analysis of Pharmaceuticals*. Taylor & Francis. United States of America; 2007.
23. Bruylants G, Wouters J, Michaux C. *Differential Scanning Calorimetry in Life Science: Thermodynamics, Stability, Molecular Recognition and Application in Drug Design*. Current Medicinal Chemistry (2005) 12, 2001-2020.
24. Chiu M. H, Prenner J. *Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions*. J. Pharm Bioallied Sci. 2011, 3(1): 39 – 69.

25. Bruylants G, Wouters J, Michaux C. *Differential Scanning Calorimetry in Life Science: Thermodynamics, Stability, Molecular Recognition and Application in Drug Design*. Current Medicinal Chemistry. 2005, Vol. 12, No. 17. 2011 – 2020.
26. Sandoval A, Rodríguez E, Fernández A. *Aplicación del Análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para la Caracterización de las Modificaciones del Almidón*. Dyna. 2005; (146) 45 – 53.
27. Haines P. J, Wilburn F.W. *Differential Thermal Analysis and Differential Scanning Calorimetry*. Chap. 3. Springer Science. 1995; 63 – 122.
28. Clas S, Dalton C, Hancock B. *Differential Scanning Calorimetry: applications in drug development*. PSTT Vol. 2, No. 8, agosto 1999.
29. Narang A, Boddu S. *Excipient Applications in Formulation Design and Drug Delivery*. United States: Springer; 2015.
30. Botha S. A, Lötter A. P. *Compatibility Study Between Oxprenolol Hydrochloride, Temazepam and Tablet Excipients Using Differential Scanning Calorimetry*. Drug Development and Industrial Pharmacy. 1990; 16 (2), 331- 345.
31. Secretaría de Salud. Comisión Permanente De La Farmacopea De Los Estados Unidos Mexicanos. *Farmacopea Herbolaria De Los Estados Unidos Mexicanos*. 2ª Ed. México: 2013.
32. Watson D, Edrada R, Patel B. *Pharmaceutical Analysis*. 4ta ed. Elsevier. China; 2017.
33. Secretaría de Salud, Diario Oficial de la Federación. *Ley General de Salud*. México: 2017.

34. Secretaría de Salud. *Reglamento de Insumos para la Salud*. México: 2014.
35. Secretaría de Salud. Comisión Permanente De La Farmacopea De Los Estados Unidos Mexicanos. *Farmacopea De Los Estados Unidos Mexicanos*. 11ª Ed. México: 2014.
36. World Health Organization. *Programme on Traditional Medicine. Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review*. WHO/TRM/98.1 Geneva: 1998.
37. Vila Jato J. *Tecnología Farmacéutica Formas Farmacéuticas*. Vol. 2. España: Editorial Síntesis, S. A.; 2001.
38. Gullapalli RP, Mazzitelli CL. *Gelatin and Non-Gelatin Capsule Dosage Forms*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* (2017) 02.006.
39. Ridgway P, Armstrong A. *Tablet and Capsule Machine Instrumentation*. 1a ed. Pharmaceutical Press. London; 2008
40. Mittal B. *How to Develop Robust Solid Oral Dosage Forms. From Conception to Post-Approval*. 1a ed. London, United Kingdom: Elsevier; 2017.
41. Mukherjee P. *Evidence-based Validation of Herbal Medicine*. 1a ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2015.
42. Sánchez M. *Diseño de una formulación de tabletas de paracetamol utilizando como factor de referencia estudios de perfil de disolución*. [Tesis] México: UNAM; 2004.
43. Bauer E. *Pharmaceutical Packaging Handbook*. 1a ed. United States of America; 2009.
44. Dean D, Evans E, Hall I. *Pharmaceutical Packaging Technology*. Taylor & Francis. London; 2000.

45. Secretaría de Salud. *Norma Oficial Mexicana NOM-072-SSA1-2012, Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios*. México; 2011
46. Rowe R, Sheskey P, Owen S. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5a edición. Great Britain: Pharmaceutical Press; 2006.
47. Podczeck F, Jones B. *Pharmaceutical Capsules*. Sanchez M. *Diseño de una formulación de tabletas de paracetamol utilizando como factor de referencia estudios de perfil de disolución*. [Tesis] México: UNAM; 2004es. 2a edición. Reino Unido: Pharmaceutical Press; 2004.
48. Narang A, Boddu S. *Excipient Applications in Formulation Design and Drug Delivery*. 1a ed. United States of America; Springer; 2015.
49. Capsugel. Vcaps®Plus. [Internet] Disponible en: <https://www.capsugel.com/biopharmaceutical-products/vcaps-plus-capsules>.
50. Barham A, Tewes F, Healy A. *Moisture diffusion and permeability characteristics of hydroxypropylmethylcellulose and hard gelatin capsules*. International Journal of Pharmaceutics. 2014; 478 (2015) 796-803.
51. Crouter A, Brien L. *The Effect of Moisture on the Flowability of Pharmaceutical Excipients*. AAPS PharmSciTech, Vol. 15, No. 1, 2014.
52. Qiu Y, Chen Y, Zhang G, Yu L, Mantri R. *Developing Solid Oral Dosage Forms. Pharmaceutical Theory & Practice*. 2a ed. United Kingdom: Elsevier; 2017.

ANEXO 1: Cromatogramas de degradaciones forzadas.

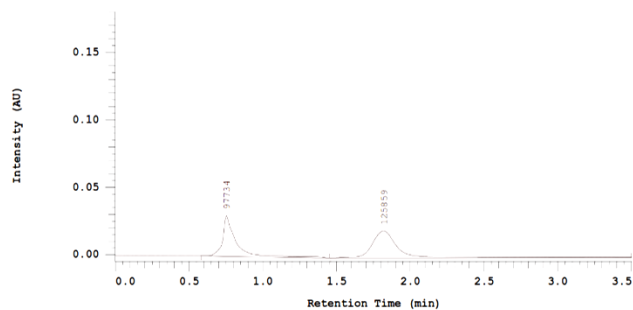


Figura 58. *S. edule* Dulce en Agua a 40 °C, 24 horas.

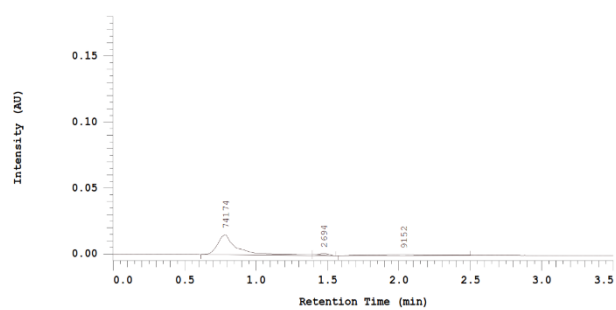


Figura 59. *S. edule* Dulce en Agua a 40 °C, 3 días.

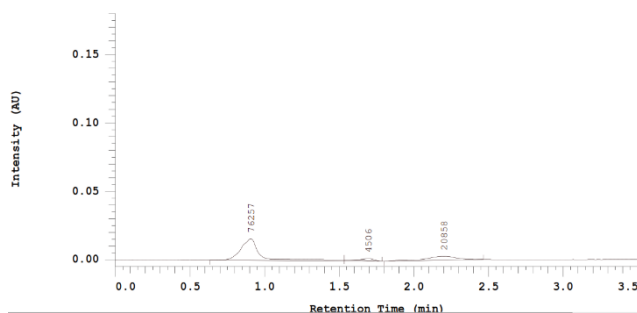


Figura 60. *S. edule* Dulce en Agua a 40 °C, 9 días.

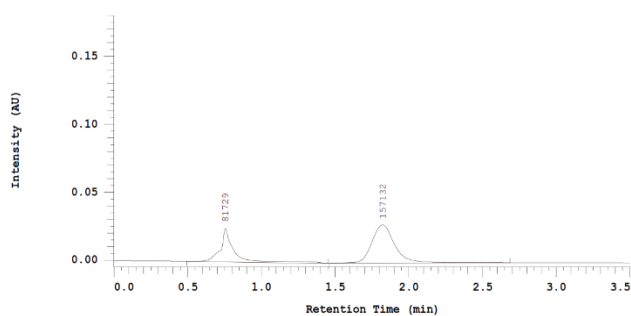


Figura 61. *S. edule* Dulce en Ácido Clorhídrico a 40 °C, 24 horas.

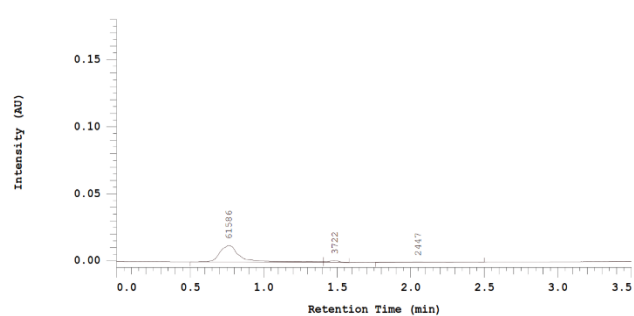


Figura 62. *S. edule* Dulce en Ácido Clorhídrico a 40 °C, 3 días.

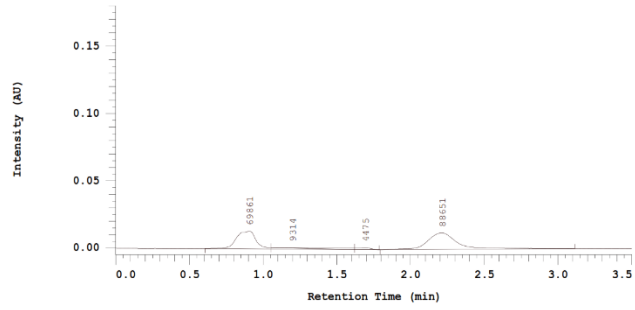


Figura 63. *S. edule* Dulce en Ácido Clorhídrico a 40 °C, 9 días.

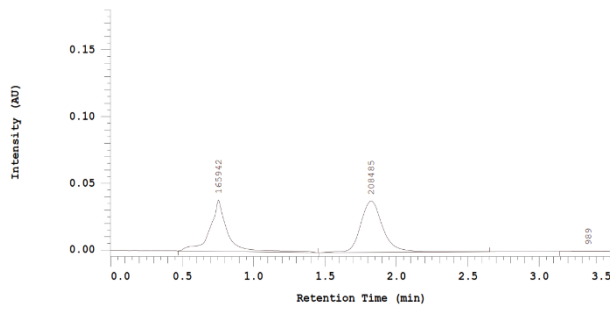


Figura 64. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 40 °C, 24 horas.

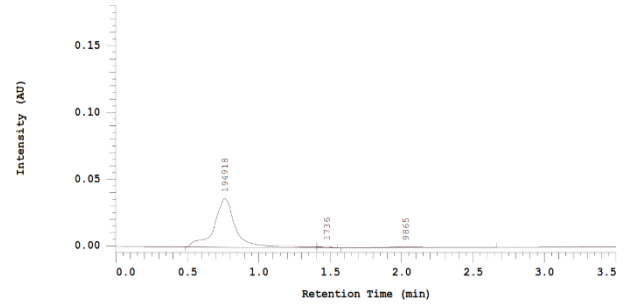


Figura 65. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 40 °C, 3 días.

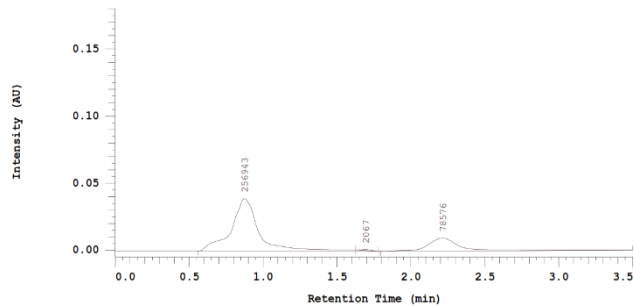


Figura 66. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 40 °C, 9 días.

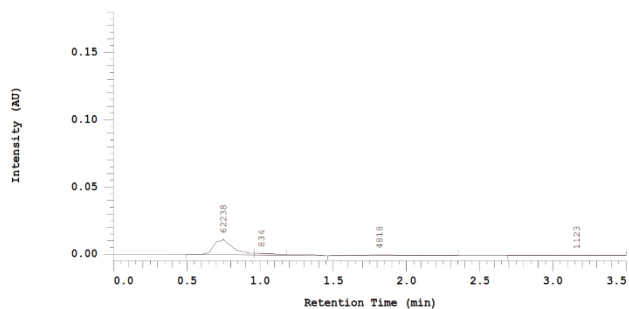


Figura 67. *S. edule* Dulce en Agua a 60 °C,
24 horas

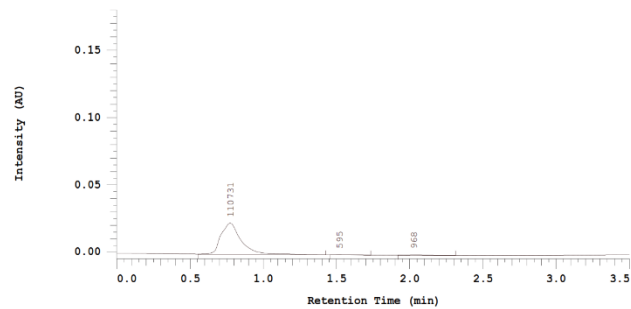


Figura 68. *S. edule* Dulce en Agua a 60 °C,
3 días.

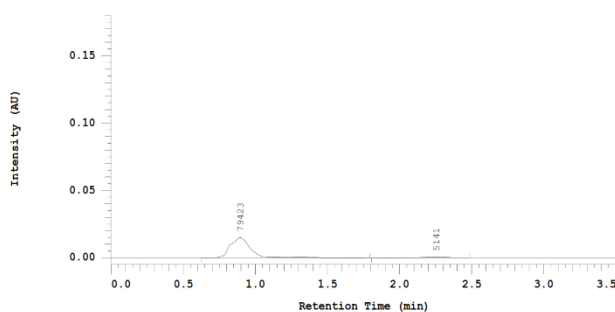


Figura 69. *S. edule* Dulce en Agua a 60 °C,
9 días.

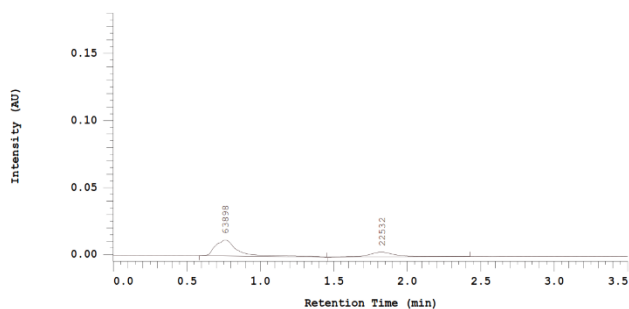


Figura 70. *S. edule* Dulce en Ácido
Clorhídrico a 60 °C, 24 horas.

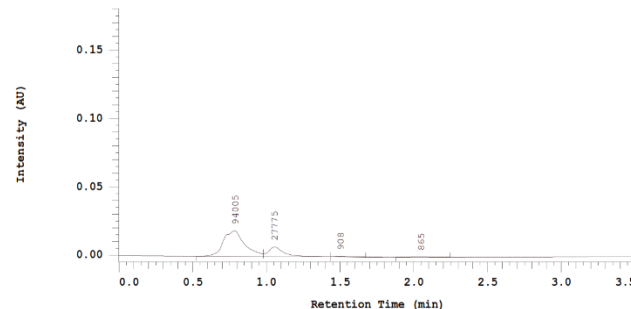


Figura 71. *S. edule* Dulce en Ácido
Clorhídrico a 60 °C, 3 días.

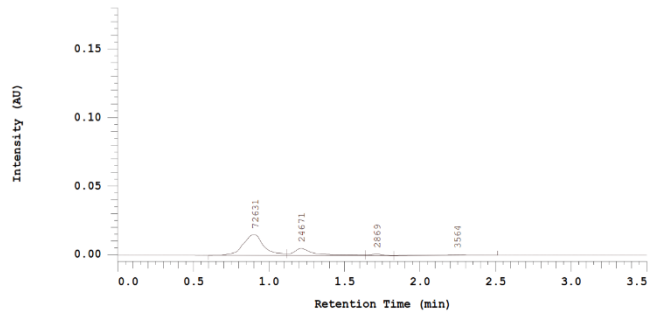


Figura 72. *S. edule* Dulce en Ácido Clorhídrico a 60 °C, 9 días.

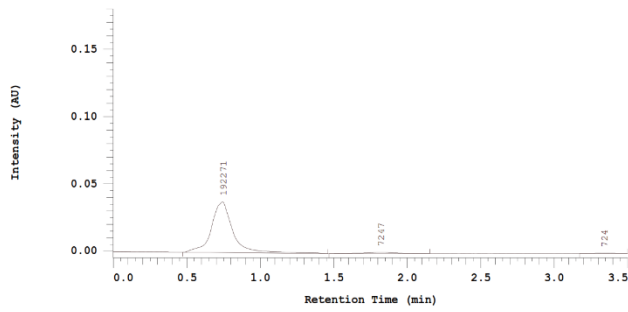


Figura 73. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 60 °C, 24 horas.

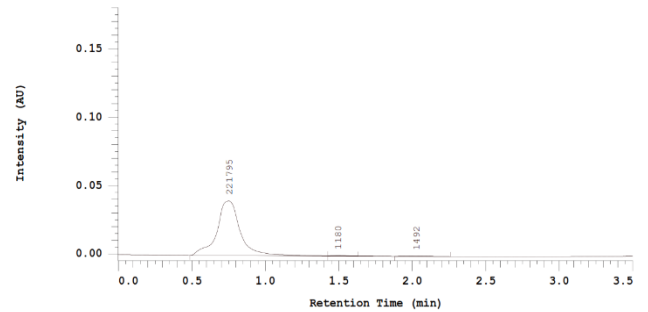


Figura 74. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 60 °C, 3 días.

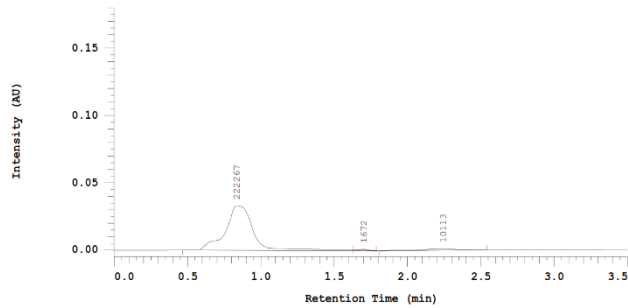


Figura 75. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 60 °C, 9 días.

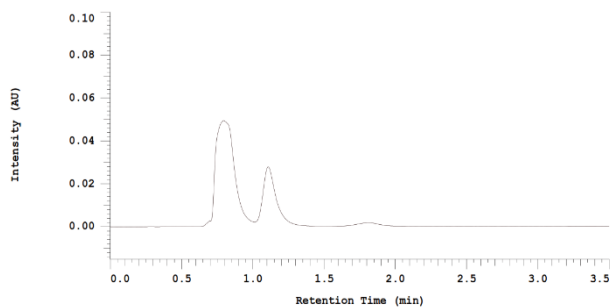


Figura 76. *S. edule* Dulce en Peróxido de hidrógeno a 25 °C, 24 horas.

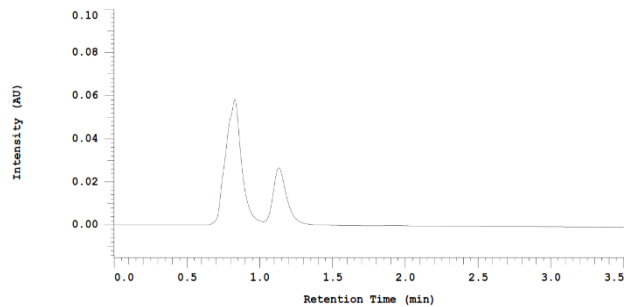


Figura 77. *S. edule* Dulce en Peróxido de hidrógeno a 25 °C, 3 días.

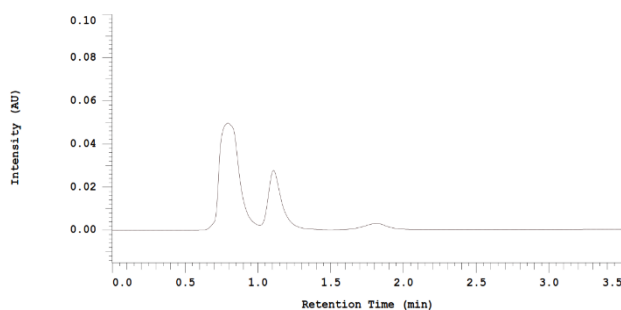


Figura 78. *S. edule* Dulce en Peróxido de hidrógeno a 25 °C, 9 días.

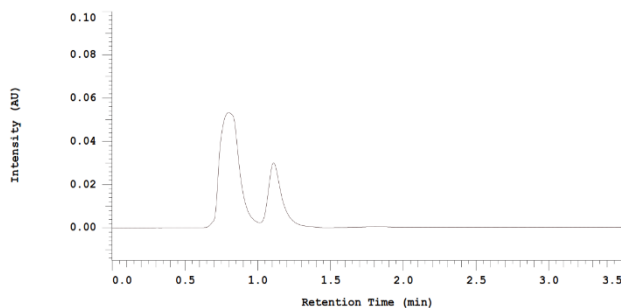


Figura 79. *S. edule* Dulce en Peróxido de hidrógeno a 60 °C, 24 horas.

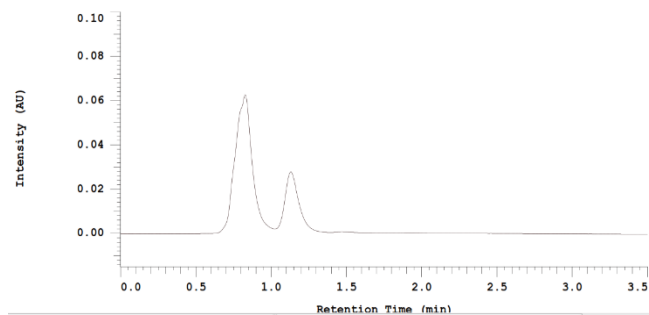


Figura 80. *S. edule* Dulce en Peróxido de hidrógeno a 60 °C, 3 días

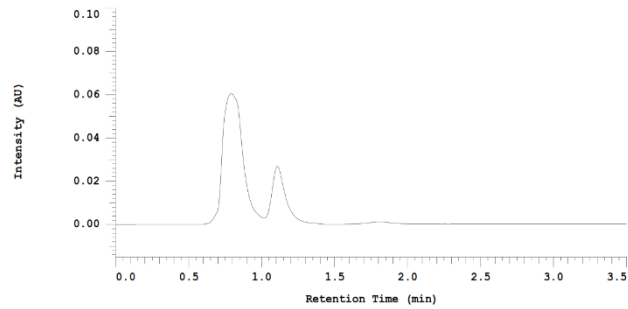


Figura 81. *S. edule* Dulce en Peróxido de hidrógeno a 60 °C, 9 días.

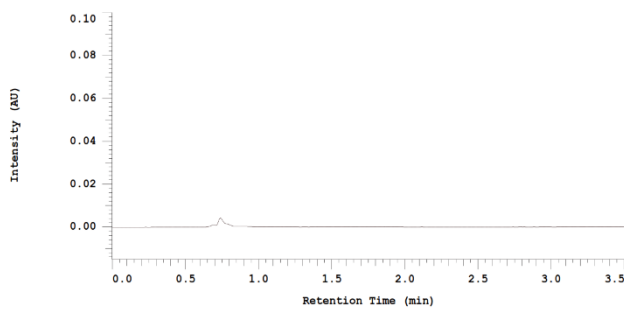


Figura 82. *S. edule* Dulce en Luz Blanca, 24 horas.

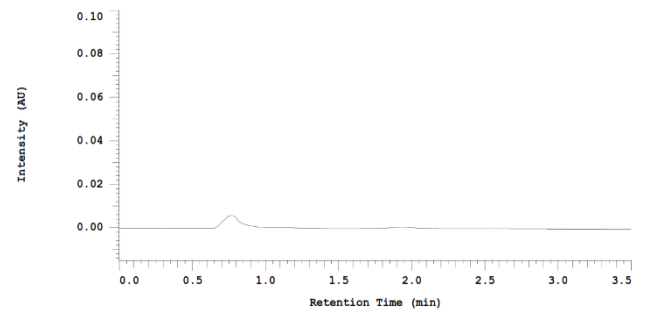


Figura 83. *S. edule* Dulce en Luz Blanca, 3 días.

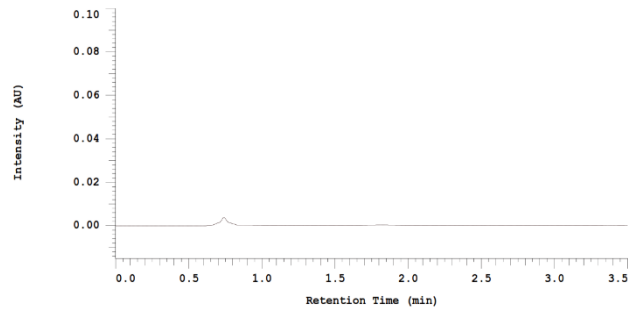


Figura 84. *S. edule* Dulce en Luz Blanca, 9 días.

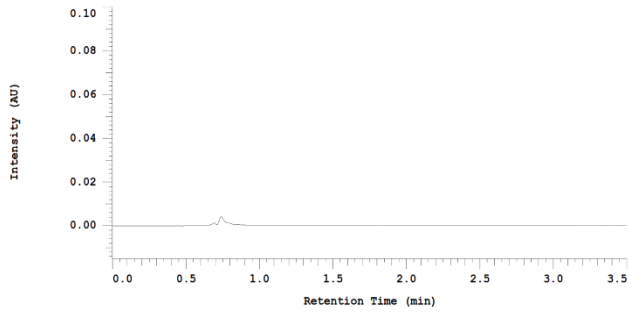


Figura 85. *S. edule* Dulce en Luz UV,
24 horas.

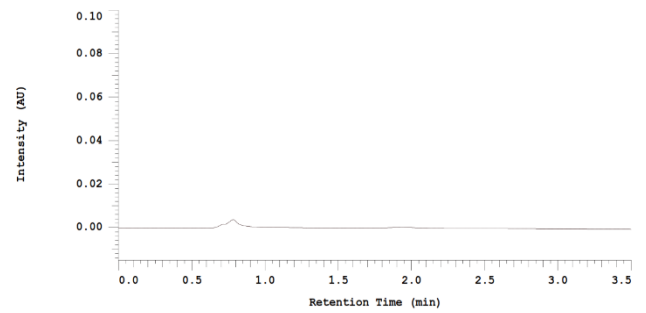


Figura 86. *S. edule* Dulce en Luz UV,
3 días.

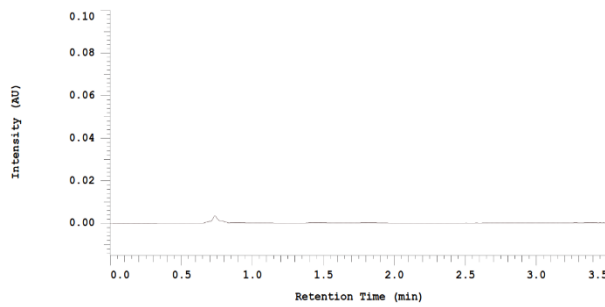


Figura 87. *S. edule* Dulce en Luz UV,
9 días.

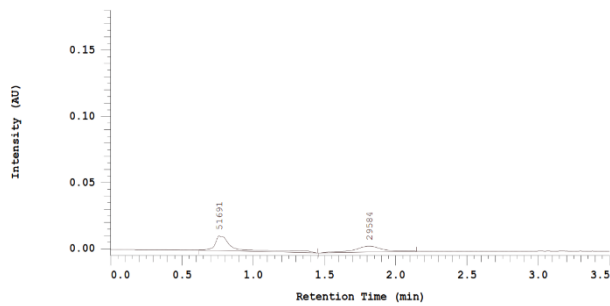


Figura 88. *S. edule* Dulce 60 °C / 75 % de
Humedad Relativa, 24 horas.

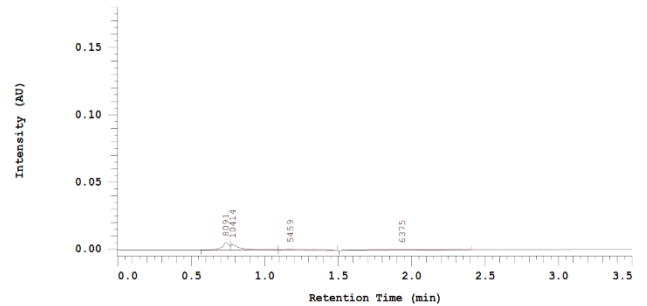


Figura 89. *S. edule* Dulce 60 °C / 75 % de
Humedad Relativa, 3 días.

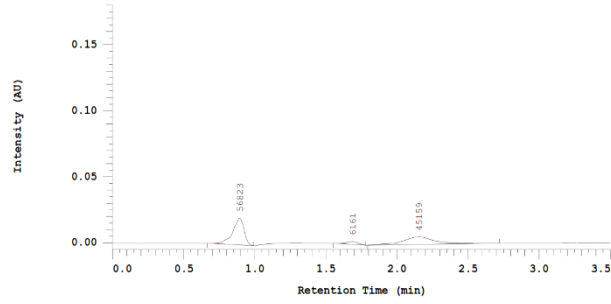


Figura 90. *S. edule* Dulce 60 °C / 75 % de Humedad Relativa, 9 días.

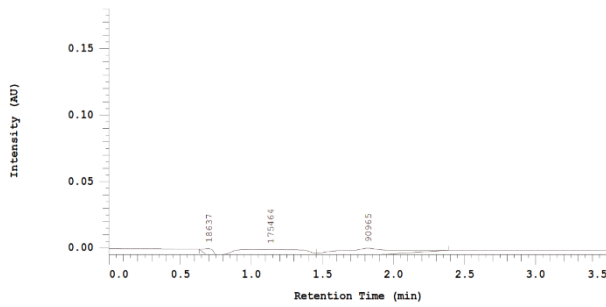


Figura 91. *S. edule* Dulce 80 °C / 75 % de Humedad Relativa, 24 horas.

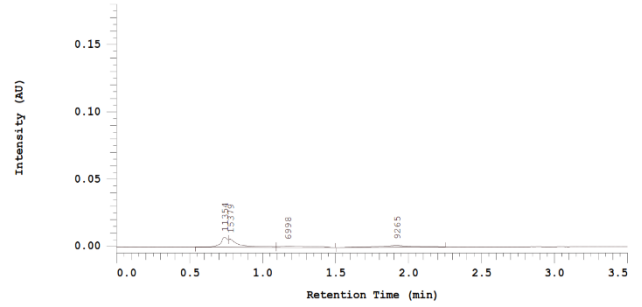


Figura 92. *S. edule* Dulce 80 °C / 75 % de Humedad Relativa, 3 días.

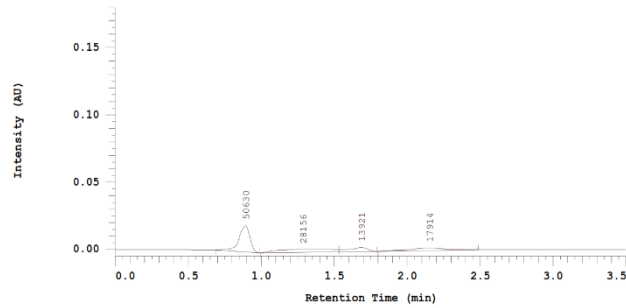


Figura 93. *S. edule* Dulce 80 °C / 75 % de Humedad Relativa, 9 días.

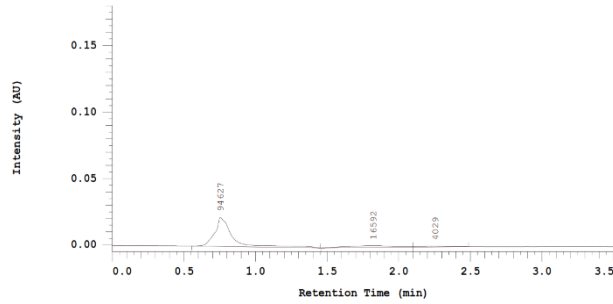


Figura 94. *S. edule* Amargo en Agua a 40 °C, 24 horas.

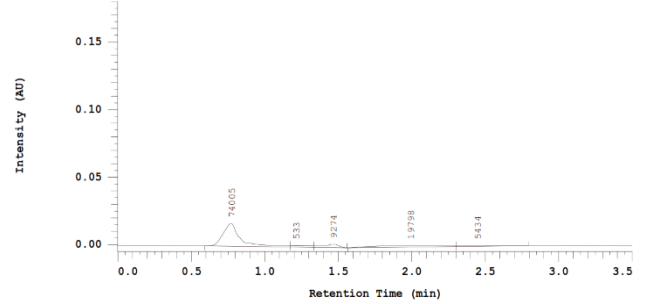


Figura 95. *S. edule* Amargo en Agua a 40 °C, 3 días.

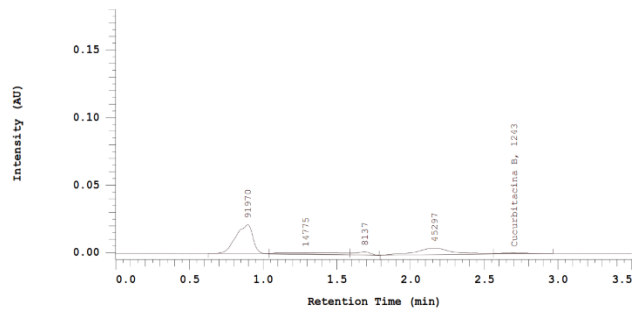


Figura 96. *S. edule* Amargo en Agua a 40 °C, 9 días.

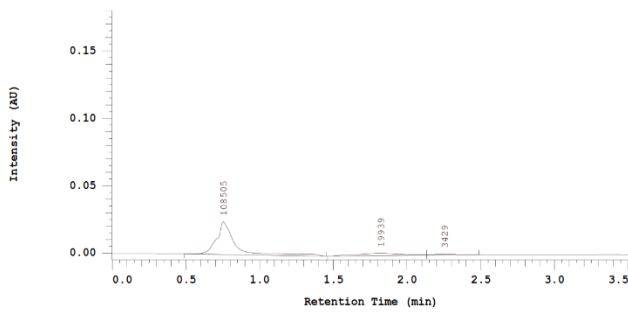


Figura 97. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 40 °C, 24 horas.

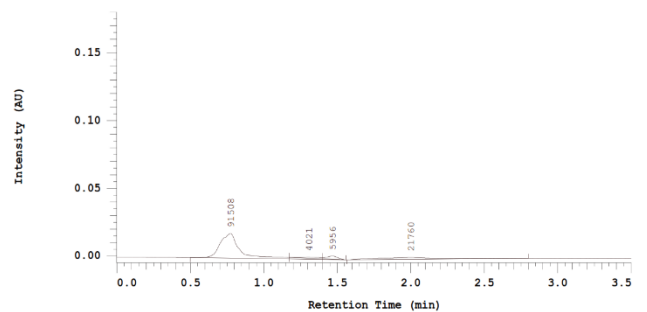


Figura 98. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 40 °C, 3 días.

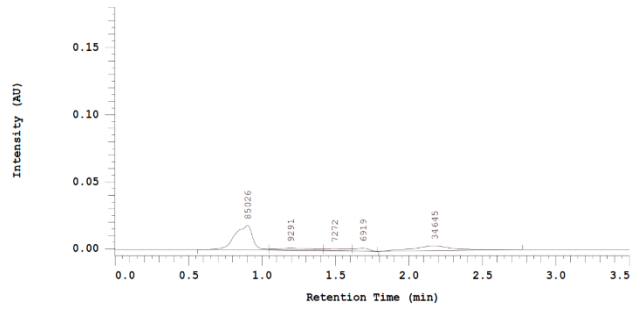


Figura 99. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 40 °C, 9 días.

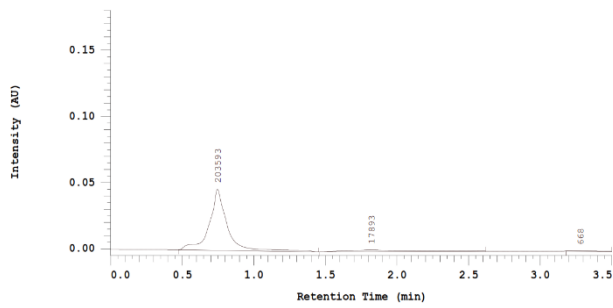


Figura 100. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 40 °C, 24 horas.

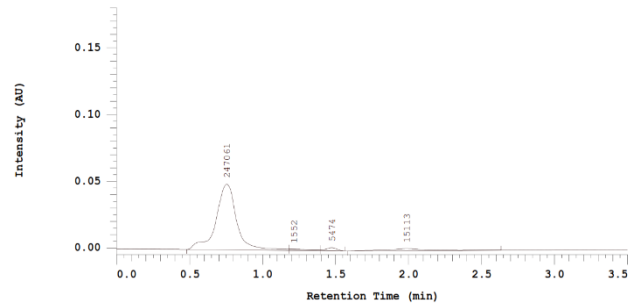


Figura 101. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 40 °C, 3 días.

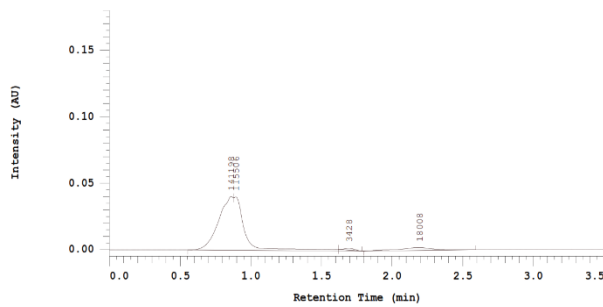


Figura 102. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 40 °C, 9 días.

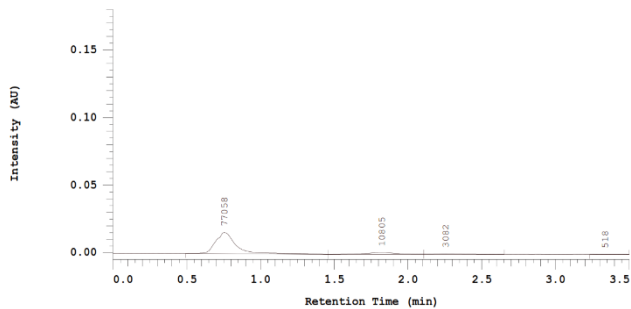


Figura 103. *S. edule* Amargo en Agua a 60 °C, 24 horas.

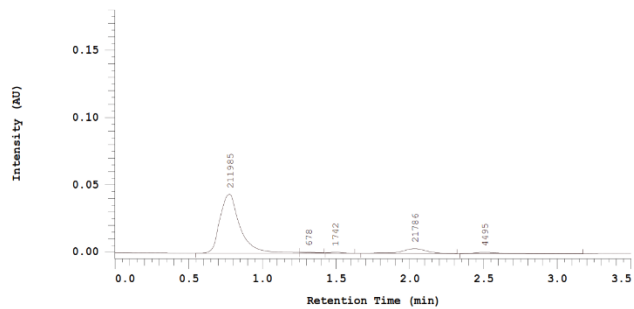


Figura 104. *S. edule* Amargo en Agua a 60 °C, 3 días.

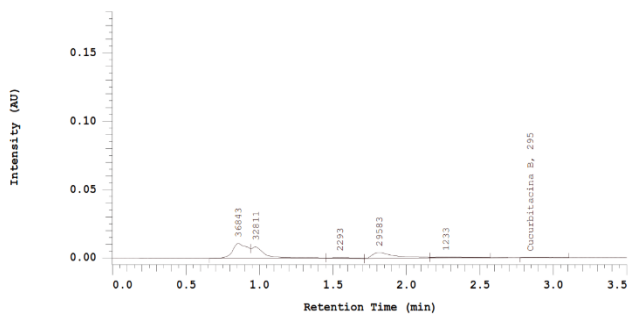


Figura 105. *S. edule* Amargo en Agua a 60 °C, 9 días.

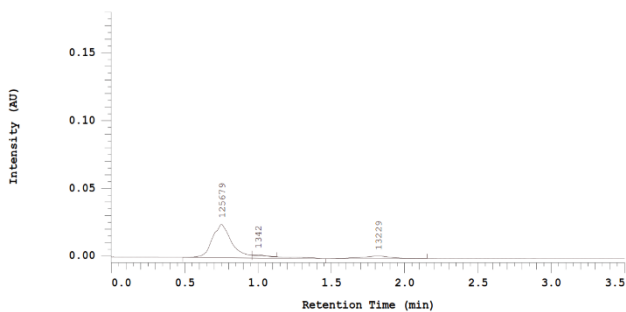


Figura 106. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 60 °C, 24 horas.

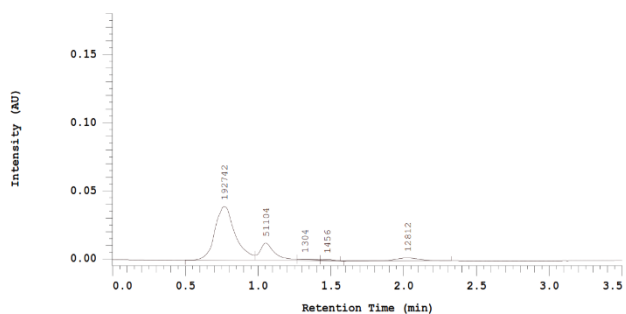


Figura 107. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 60 °C, 3 días.

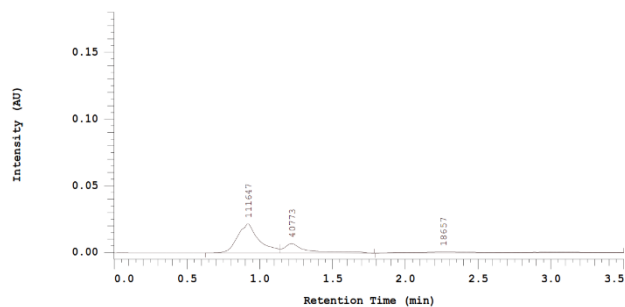


Figura 108. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 60 °C, 9 días.

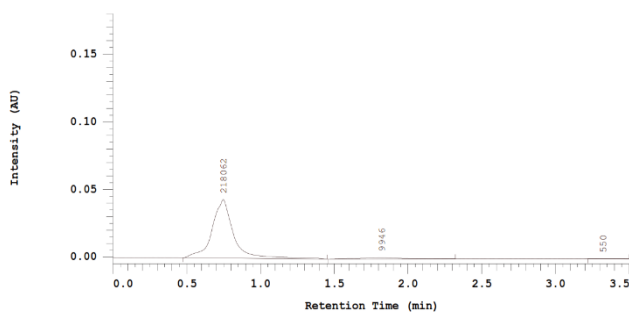


Figura 109. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 60 °C, 24 horas.

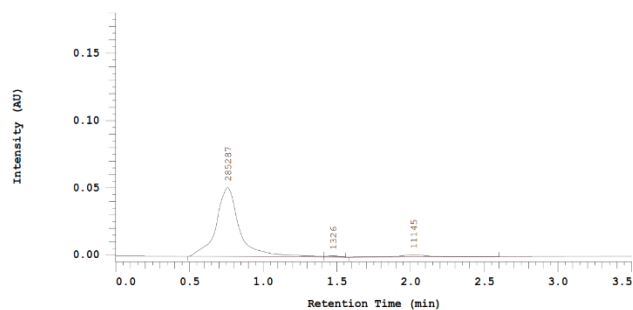


Figura 110. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 60 °C, 3 días.

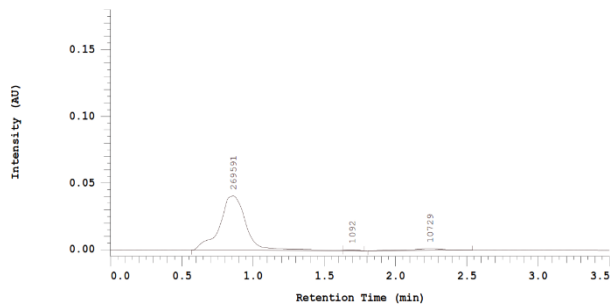


Figura 111. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 60 °C, 9 días.

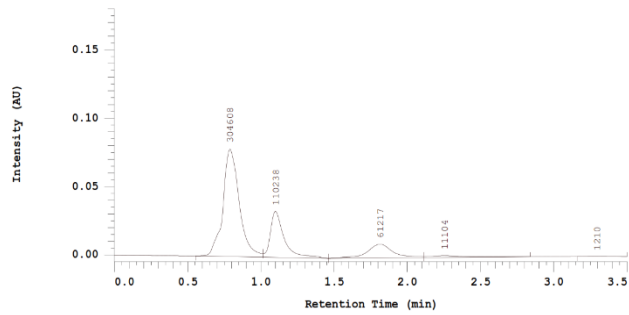


Figura 112. *S. edule* Amargo en Peróxido de hidrógeno a 25 °C, 24 horas.

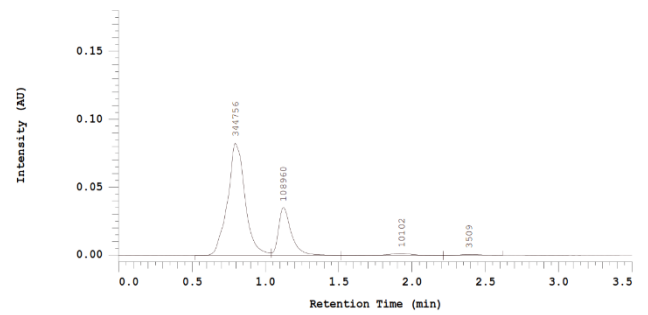


Figura 113. *S. edule* Amargo en Peróxido de hidrógeno a 25 °C, 3 días.

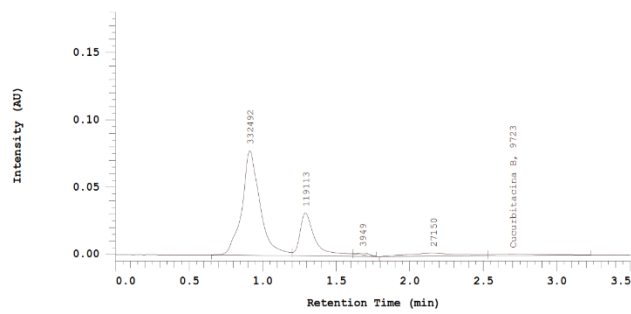


Figura 114. *S. edule* Amargo en Peróxido de hidrógeno a 25 °C, 9 días.

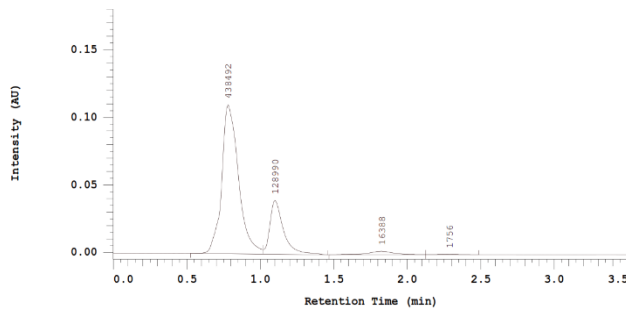


Figura 115. *S. edule* Amargo en Peróxido de hidrógeno a 60 °C, 24 horas.

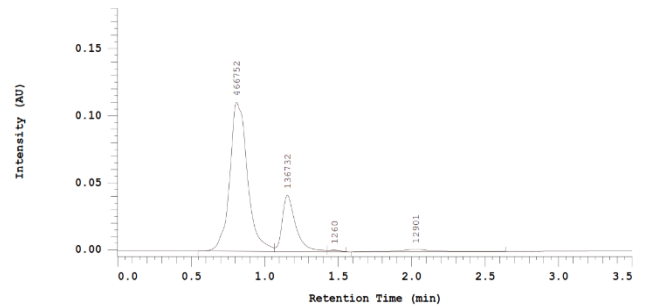


Figura 116. *S. edule* Amargo en Peróxido de hidrógeno a 60 °C, 3 días.

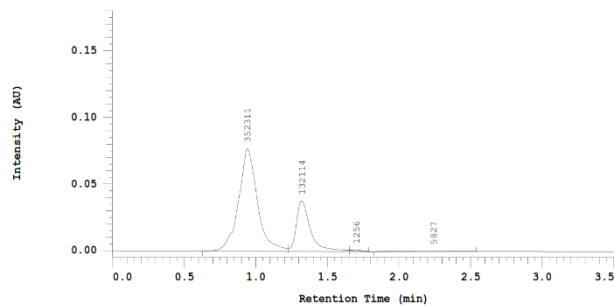


Figura 117. *S. edule* Amargo en Peróxido de hidrógeno a 60 °C, 9 días.

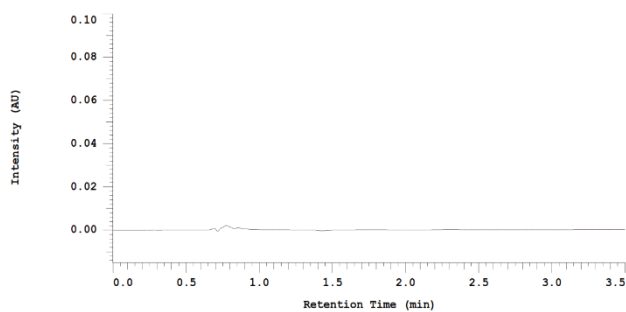


Figura 118. *S. edule* Amargo en Luz Blanca, 24 horas.

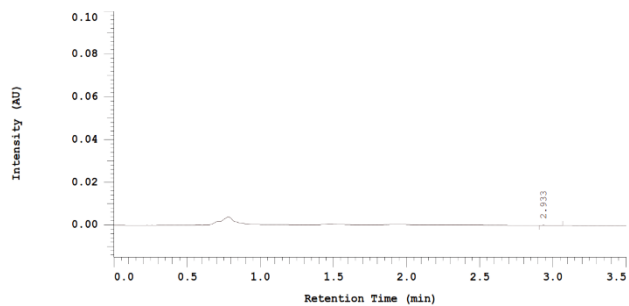


Figura 119. *S. edule* Amargo en Luz Blanca, 3 días.

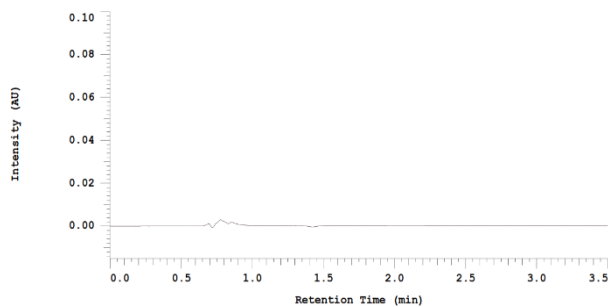


Figura 120. *S. edule* Amargo en Luz Blanca, 9 días.

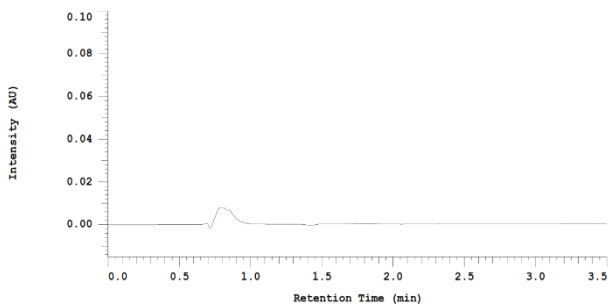


Figura 121. *S. edule* Amargo en Luz UV, 24 horas.

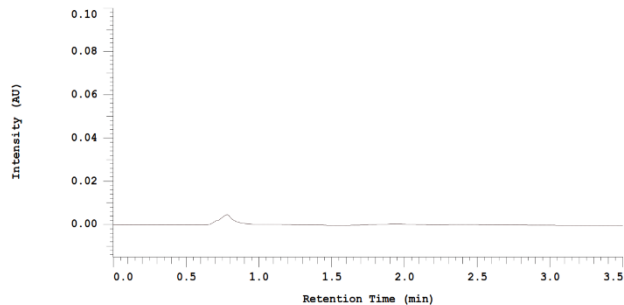


Figura 122. *S. edule* Amargo en Luz UV, 3 días.

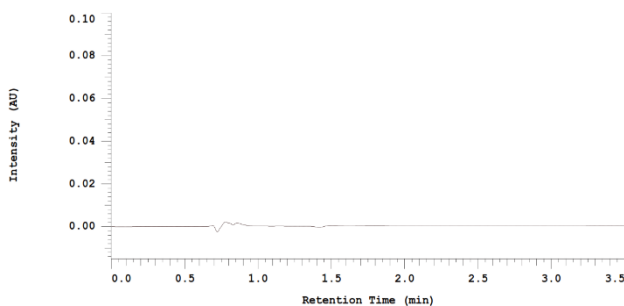


Figura 123. *S. edule* Amargo en Luz UV, 9 días.

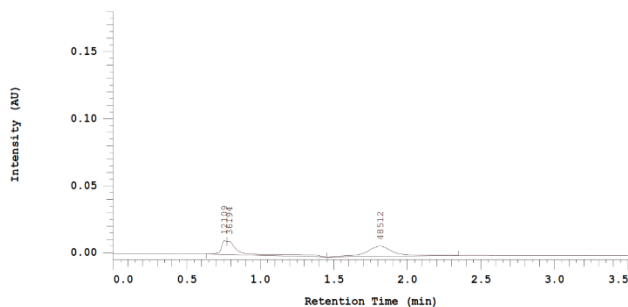


Figura 124. *S. edule* Amargo 60 °C / 75 % de Humedad Relativa, 24 horas.

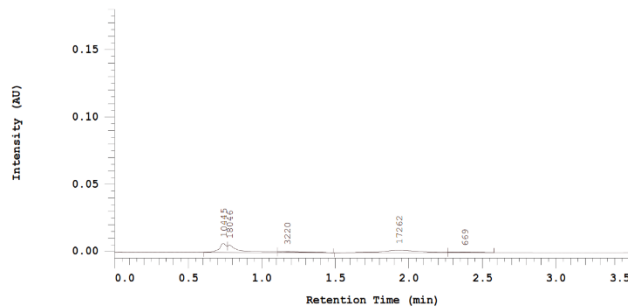


Figura 125. *S. edule* Amargo 60 °C / 75 % de Humedad Relativa, 3 días.

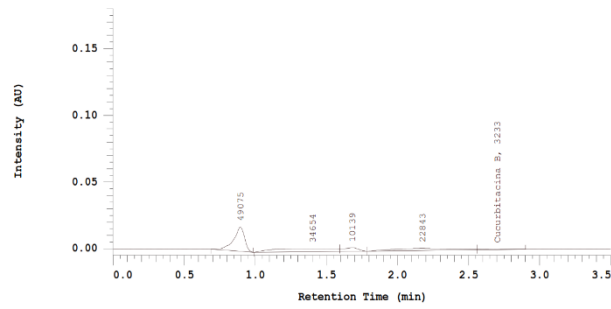


Figura 126. *S. edule* Amargo 60 °C / 75 % de Humedad Relativa, 9 días.

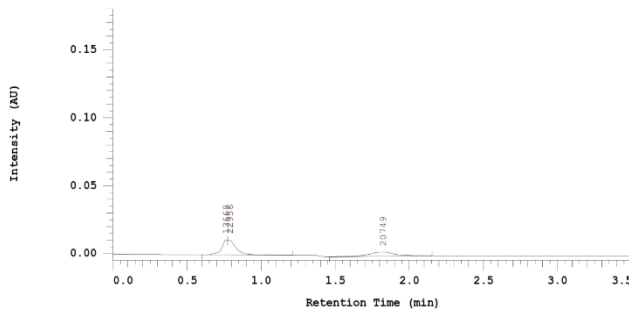


Figura 127. *S. edule* Amargo 80 °C / 75 % de Humedad Relativa, 24 horas.

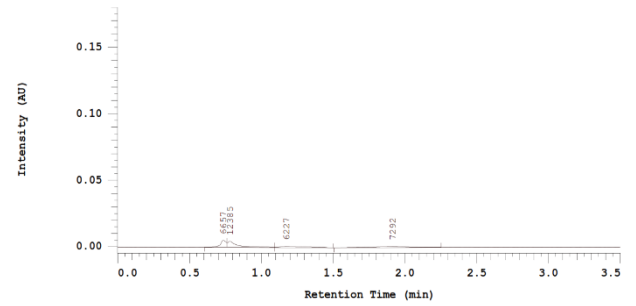


Figura 128. *S. edule* Amargo 80 °C / 75 % de Humedad Relativa, 3 días.

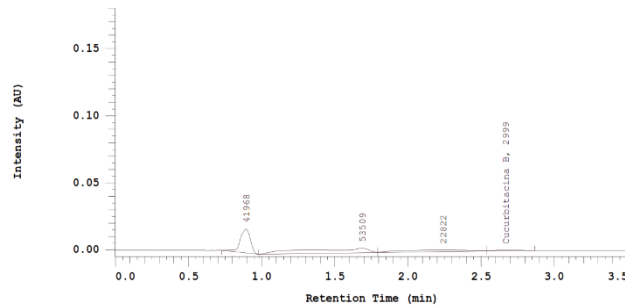


Figura 129. *S. edule* Amargo 80 °C / 75 % de Humedad Relativa, 9 días.

ANEXO 2. Imágenes de espectros de degradaciones forzadas en el día 9

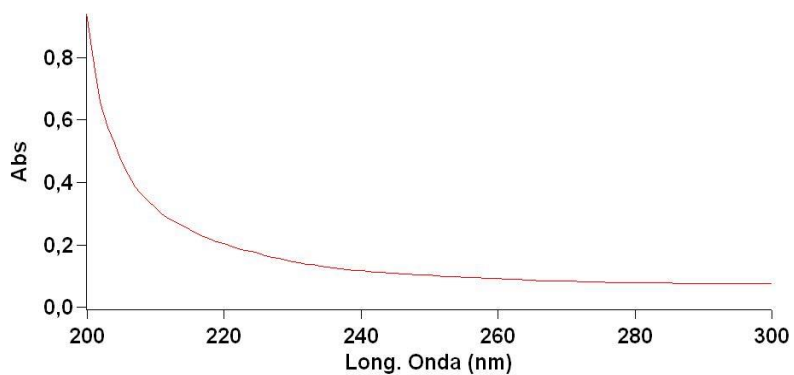


Figura 130. Control de *S. edule* Dulce.

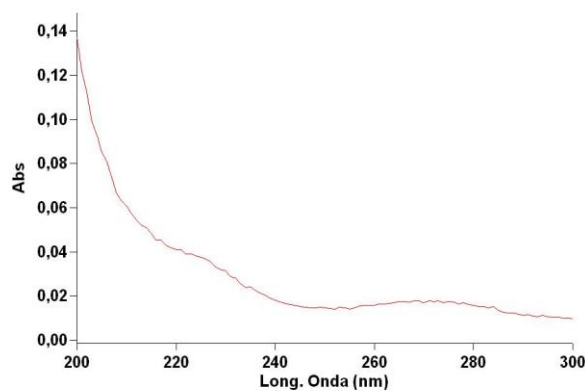


Figura 131. *S. edule* Dulce en Agua a 40 °C.

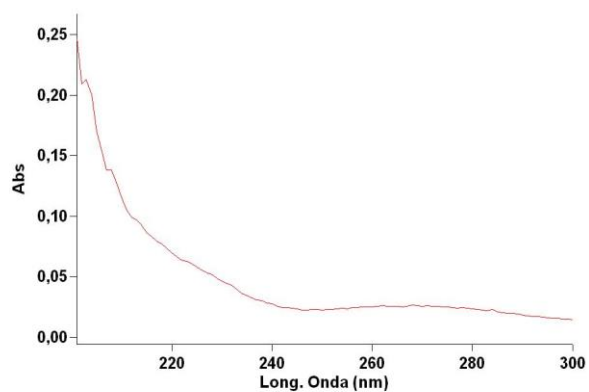


Figura 132. *S. edule* Dulce en Ácido Clorhídrico a 40°C

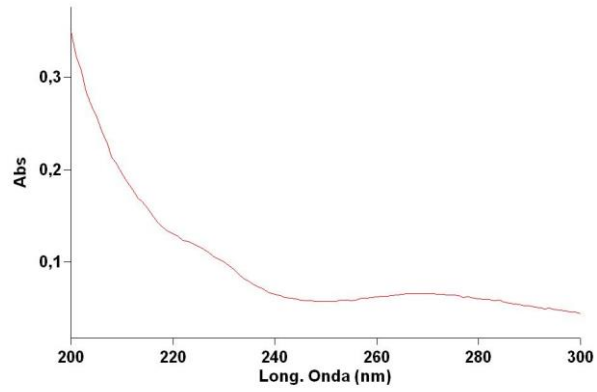


Figura 133. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 40 °C

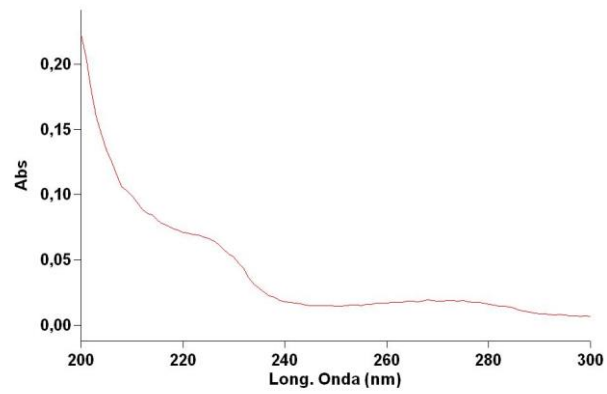


Figura 134. *S. edule* Dulce en Agua a 60 °C

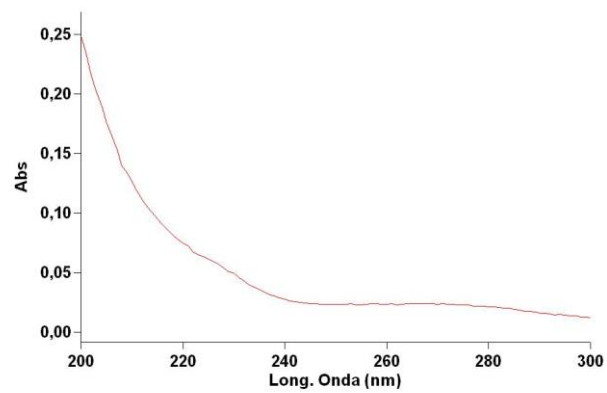


Figura 135. *S. edule* Dulce en Ácido Clorhídrico a 60 °C

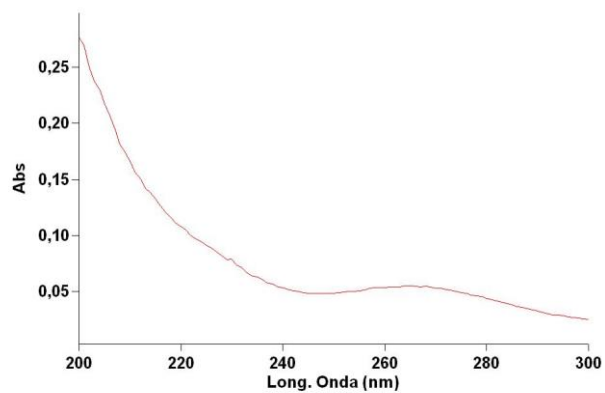


Figura 136. *S. edule* Dulce en Hidróxido de Sodio a 60 ° C

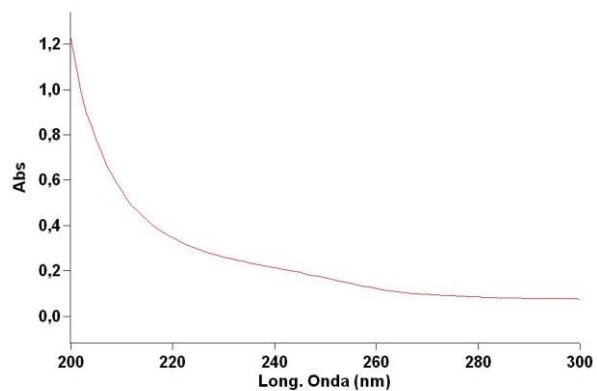


Figura 137. *S. edule* Dulce en Peróxido de Hidrógeno a 25 °C

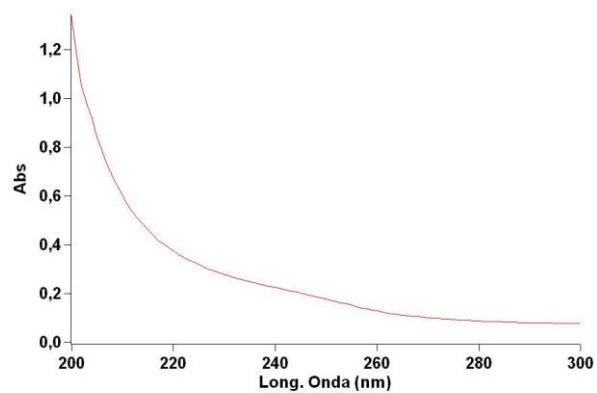


Figura 138. *S. edule* Dulce en Peróxido de Hidrógeno a 60 °C

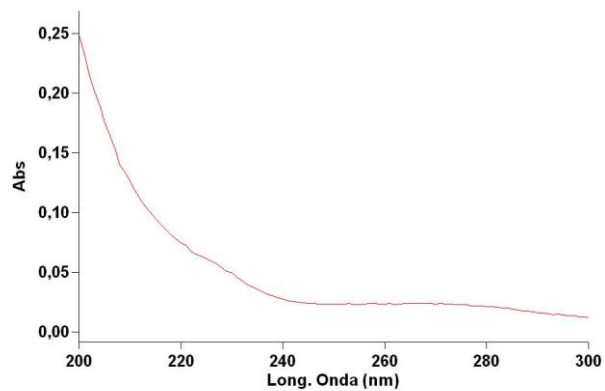


Figura 139. *S. edule* Dulce con Luz Blanca

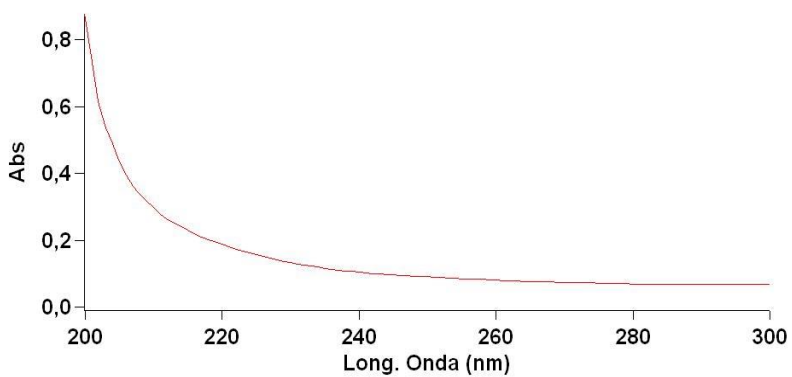


Figura 140. *S. edule* Dulce con Luz UV

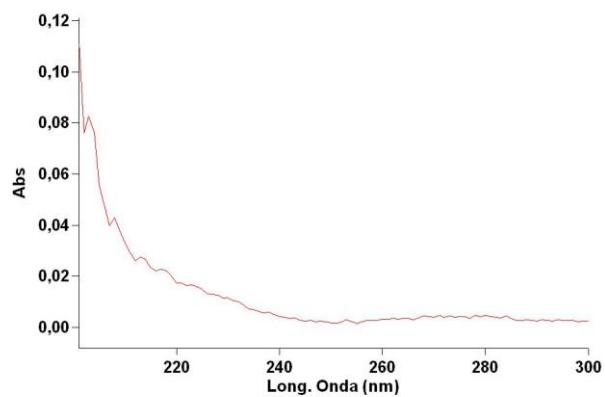


Figura 141. *S. edule* Dulce a 60 °C / 75 % HR

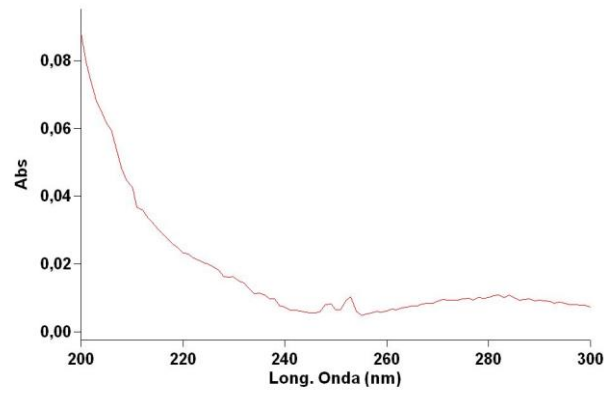


Figura 142. *S. edule* Dulce a 80 °C / 75 % HR

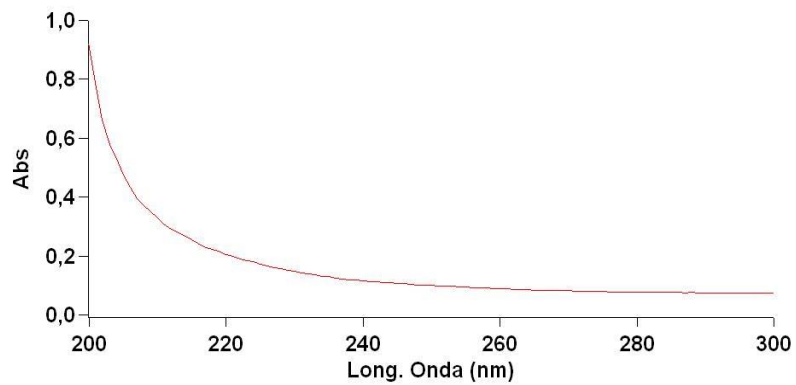


Figura 143. Control de *S. edule* Amargo

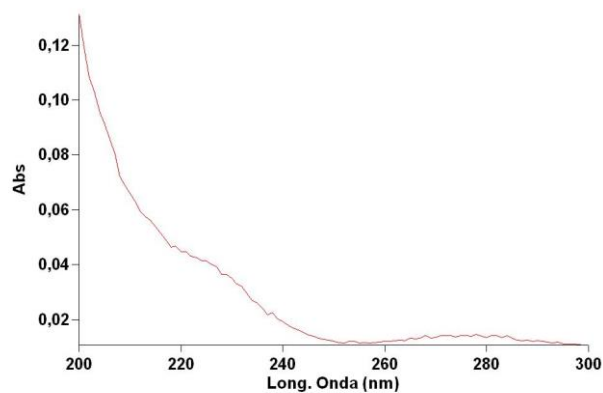


Figura 144. *S. edule* Amargo en Agua a 40 °C

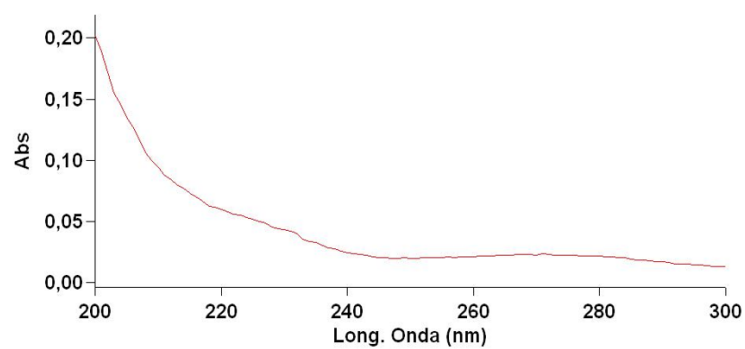


Figura 145. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 40 °C

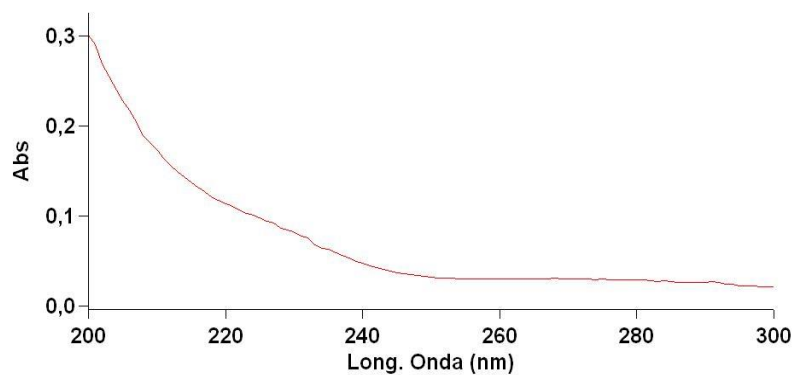


Figura 146. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 40 °C

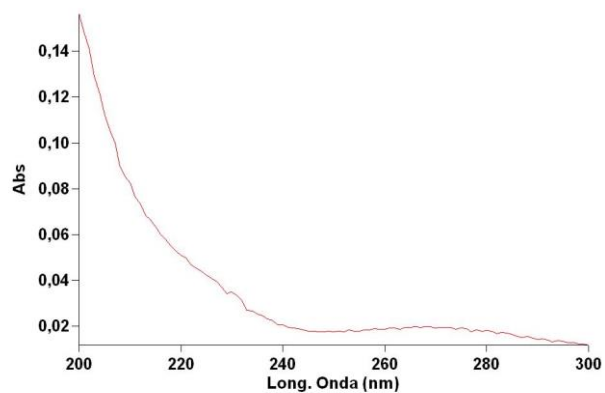


Figura 147. *S. edule* Amargo en Agua a 60 °C

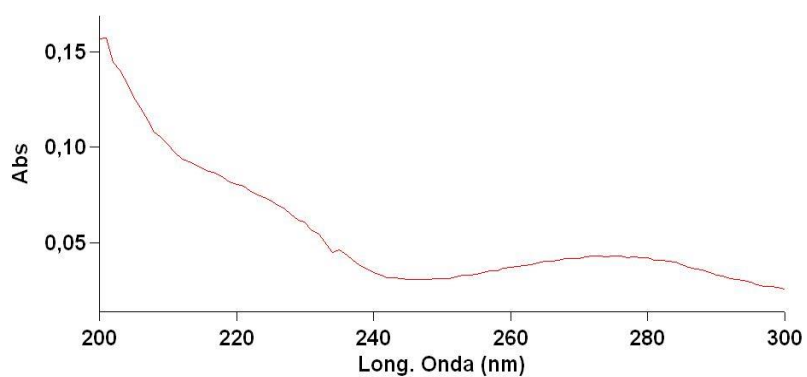


Figura 148. *S. edule* Amargo en Ácido Clorhídrico a 60 °C

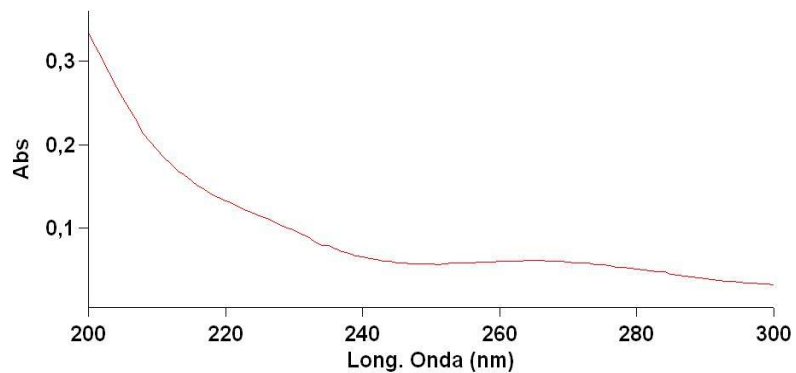


Figura 149. *S. edule* Amargo en Hidróxido de Sodio a 60 °C

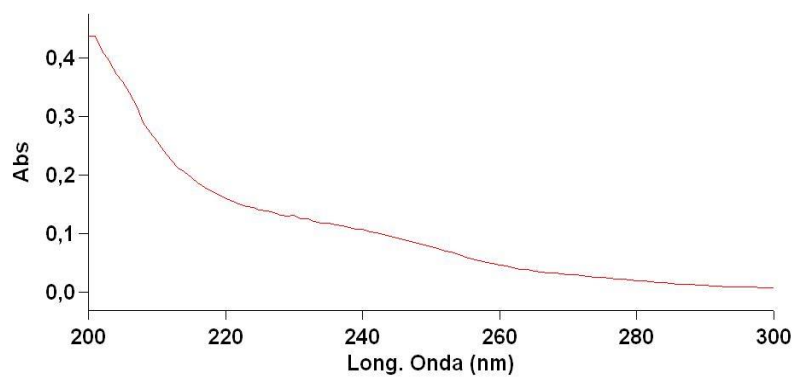


Figura 150. *S. edule* Amargo en Peróxido de Hidrógeno a 25 °C

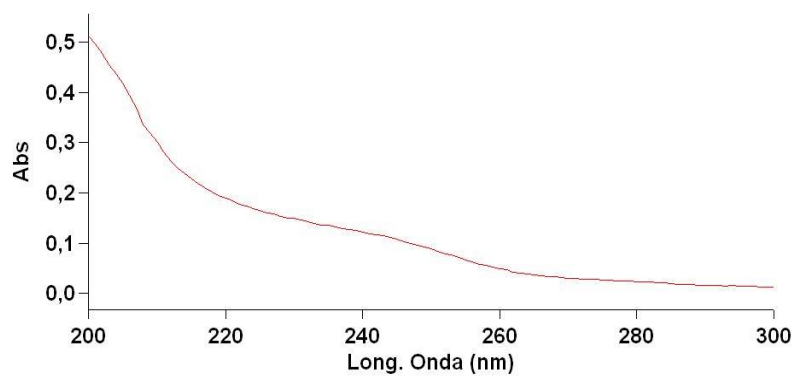


Figura 151. *S. edule* Amargo en Peróxido de Hidrógeno a 60 °C

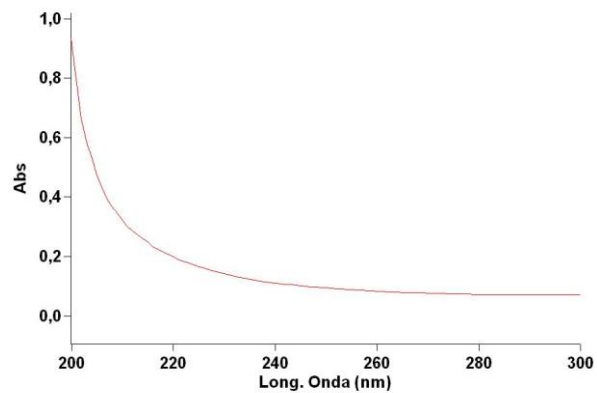


Figura 152. *S. edule* Amargo en Luz Blanca.

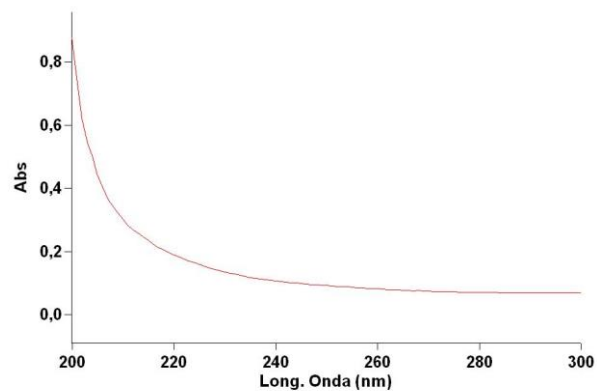


Figura 153. *S. edule* Amargo en Luz UV.

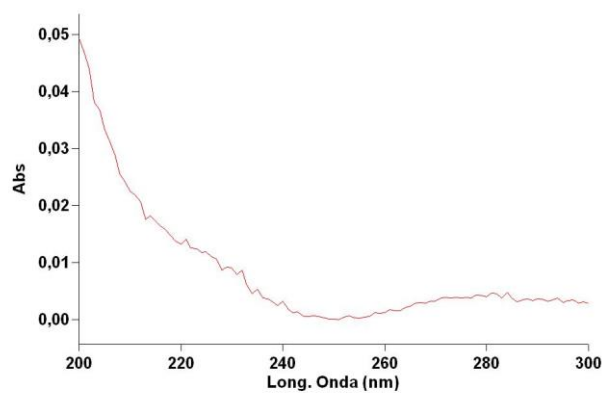


Figura 154. *S. edule* Amargo a 60 °C / 75 % HR.

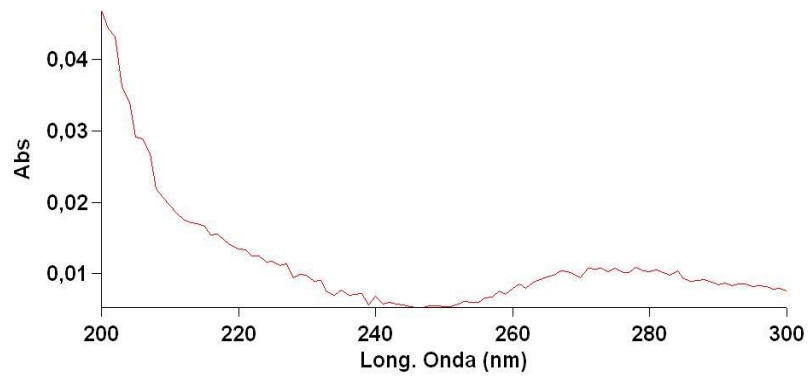


Figura 155. *S. edule* Amargo a 60 °C / 75% HR.