



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ESTUDIOS DE COMPATIBILIDAD  
FÁRMACO-EXCIPIENTE”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**VIRIDIANA GISELA LLERA ROJAS**



**MÉXICO, D.F.**

**2009**

**JURADO ASIGNADO:**

<b>PRESIDENTE:</b>	<b>María del Socorro Alpizar Ramos</b>
<b>VOCAL</b>	<b>Efrén Hernández Baltazar</b>
<b>SECRETARIO:</b>	<b>Raúl Lugo Villegas</b>
<b>1er. SUPLENTE:</b>	<b>María Eugenia Ivette Gómez Sánchez</b>
<b>2° SUPLENTE:</b>	<b>Iván Alejandro Franco Morales</b>

**El trabajo fue realizado en el Sistema Bibliohemerográfico de la UNAM, bajo la dirección de la M. en C. María del Socorro Alpizar Ramos**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**María del Socorro Alpizar Ramos**

**SUSTENTANTE:**

---

**Viridiana Gisela Llera Rojas**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, por todos los principios que me han inculcado, su apoyo y cariño.

A mi hermano, mi mejor amigo.

A mis amigos por compartir un poco de si conmigo.

A mi asesora, la Profesora María del Socorro Alpizar R. por su guía.

"De entre todas las cosas que guardes, guarda tú corazón"

*A Nathán*

# ÍNDICE

Agradecimientos	I
Índice	II
Introducción	IV
Objetivos	V
Capítulo I Preformulación	1
1.1 Etapas del Desarrollo de un Nuevo Medicamento	1
1.2 Historia de la Preformulación	3
1.3 Propósitos y Ventajas de la Preformulación	4
1.3.1 Caracterización fisicoquímica del principio activo	4
1.4 Compatibilidad Fármaco Excipiente	10
Capítulo II Estudios de Compatibilidad; Metodologías Comunes	13
2.1 Introducción	13
2.2 Calorimetría Diferencial de Barrido	13
2.2.1 Fundamento de la técnica	13
2.2.2 Evaluación de la compatibilidad	15
2.3 Metodología Tradicional: Cromatografía en Capa Fina	24
Capítulo III Estudios de Compatibilidad y Cromatografía en Capa Fina	27
3.1 Las Ventajas de la Cromatografía en Capa Fina	27
3.2 Consideraciones y metodología para el análisis de compatibilidad fármaco-excipiente mediante cromatografía en capa fina	29
3.2.1 Tipos de cromatografía disponibles para TLC	29
3.2.2 La fase estacionaria	30
3.2.3 La fase móvil	31
3.2.4 Preparación y aplicación de la muestra	38
3.2.5 Desarrollo de la TLC	43
3.2.6 Detección y Visualización	46

3.2.7	Evaluación Cualitativa y Documentación	49
	Capítulo IV Estudio de Caso: Ibuprofeno	52
4.2	Justificación	52
4.2	El Ibuprofeno	52
	4.2.1 Caracterización del Ibuprofeno	54
4.3	Selección de Excipientes para Pruebas de Preformulación	62
	4.3.1 Componentes de una tableta y métodos de producción	65
	4.3.2 Selección de excipientes	67
4.4	Diseño del Estudio de Compatibilidad	71
4.5	Documentación y Análisis de Resultados	73
	Conclusiones	74
	Bibliografía	75
	Anexos	76

## INTRODUCCIÓN

Con base a las modificaciones realizadas en el artículo 376 de La Ley General de Salud, a partir del 21 de febrero de 2010 solo se expedirá registro sanitario a aquellos medicamentos que demuestren intercambiabilidad; además, los registros tendrán una vigencia limitada de 5 años.

Una de las consecuencias de estas reformas que impacta directamente a la industria farmacéutica nacional, es la desaparición de los medicamentos genéricos intercambiables y similares, dando lugar a la figura de medicamento genérico, que es aquel que demuestra su eficacia a través de pruebas de intercambiabilidad.

Por lo tanto todos aquellos medicamentos que se expenden en el país deberán sustentar científicamente la intercambiabilidad, ya sea a través de las pruebas de disolución y/o bioequivalencia, dependiendo del caso, para mantenerse en el mercado.

Lo anterior implica una doble tarea, de parte del gobierno, que deberá aportar los medios suficientes para realizar las pruebas de bioequivalencia, y de los laboratorios, que tendrán que evaluar la capacidad de sus formulaciones para cumplir con los criterios expuestos, de lo contrario se verán en la necesidad de recurrir a la reformulación.

Para poder formular o reformular una forma farmacéutica es necesario caracterizar fisicoquímicamente al principio activo, a los estudios de caracterización del activo se les conoce como estudios de preformulación. (Banker et al, 2002).

## OBJETIVOS

- Proporcionar un panorama general acerca de los estudios de preformulación, haciendo énfasis en los estudios de compatibilidad fármaco – excipiente cuya finalidad es seleccionar a los excipientes que no interaccionan químicamente con el fármaco y que, por lo tanto, serán capaces de constituir una forma farmacéutica segura y eficaz.
- Exponer los fundamentos teóricos, ventajas y desventajas del uso de la calorimetría diferencial de barrido y la cromatografía en capa fina para el estudio de la compatibilidad y generar una guía básica para el análisis de compatibilidad mediante cromatografía en capa fina.

# CAPÍTULO I

## Preformulación

### 1.1 Etapas del desarrollo de un medicamento

Entre el descubrimiento de un fármaco y su venta como medicamento tienen lugar las siguientes etapas básicas:



Las etapas de descubrimiento y optimización suelen llevar un tiempo estimado de entre uno a cinco años. La etapa de descubrimiento consiste en la búsqueda de prototipos de fármacos mediante diversas metodologías, que van desde las más tradicionales, por ejemplo el uso de criterios etnobotánicos, hasta las más modernas como la química combinatoria, el rastreo de alta capacidad, (HTS por sus siglas en inglés); el modelado molecular *in silico*, el diseño basado en la estructura, la genómica, la proteómica, los ensayos en microarreglos, entre otras tecnologías emergentes, que permiten tanto el diseño racional de moléculas, así como el análisis de una mayor cantidad de muestras (lo que se traduce en un ahorro de tiempo y recursos). Otra ventaja de estas nuevas tecnologías, es que logran eliminar o disminuir el uso de animales durante los estudios preclínicos.

*Figura 1.1 Pruebas en la etapa de descubrimiento*



Durante la etapa de desarrollo de un principio activo se sintetizan una gran cantidad de moléculas. Las tecnologías más recientes permiten analizar rápidamente miles de muestras en busca de un compuesto con potencial actividad farmacológica.



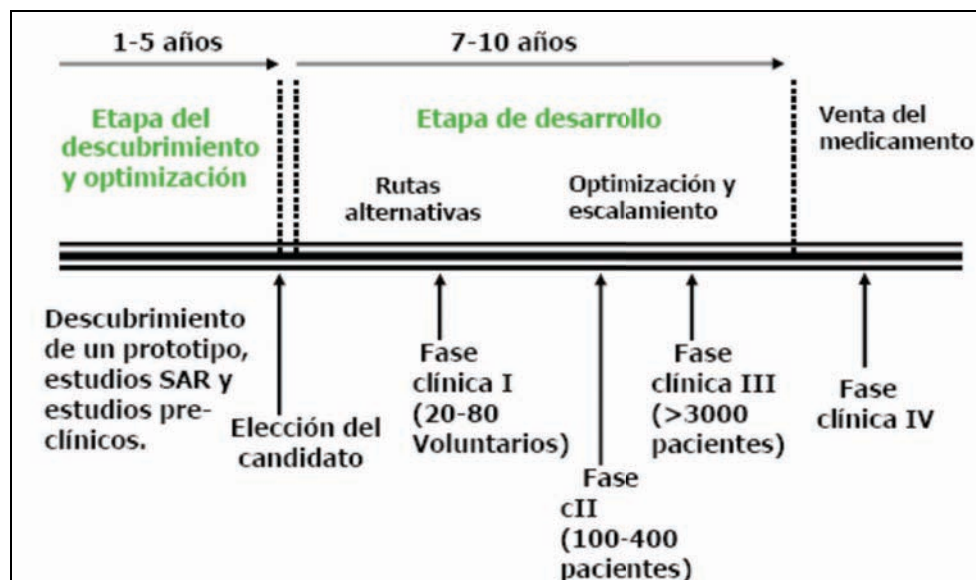
Al final de la etapa de descubrimiento, se obtienen una serie de prototipos, que por sus propiedades biofarmacéuticas, su actividad farmacológica y su baja toxicidad, resultan prometedores para su posterior optimización y desarrollo.

La optimización, como su nombre lo indica, busca mejorar las propiedades biofarmacéuticas del prototipo seleccionado, mediante su modificación química parcial; entre estas propiedades se encuentran: solubilidad, liposolubilidad, grado de ionización, volumen molecular, área polar superficial, etc. La modificación de estas propiedades esta encaminada a mejorar la capacidad del prototipo para interaccionar con su receptor o con el sitio en el que ejerce su actividad farmacológica. (Avendaño, 2000).

Finalmente la etapa de desarrollo, que puede durar entre 7 y 10 años, involucra la búsqueda de rutas sintéticas alternativas, la preformulación y la formulación de la forma farmacéutica más apropiada, la optimización, el escalamiento del proceso de manufactura de la forma farmacéutica y las fases clínicas I, II y III. (Banker et al, 2002).

Resulta importante recalcar que las etapas antes mencionadas representan un enorme tamiz para todas las moléculas que se generan, debido a que muchas de ellas se quedan estancadas en alguna etapa, pues no poseen las características necesarias para transformarse en un fármaco. (Avendaño, 1993).

Figura 1.2 Etapas del desarrollo de un medicamento (King, 2002).



El desarrollo de un medicamento es un proceso largo y complicado, donde pocas moléculas llegan a convertirse en medicamentos. Algunos de los factores que contribuyen a las fallas en el desarrollo de nuevos fármacos son: falta de eficacia (29%), toxicidad (11%), efectos adversos (10%), propiedades biofarmacéuticas pobres (40%), razones comerciales (5%), otras razones (5%). (Avendaño, 1993).

## **1.2 Historia de la Preformulación**

Cuando logra identificarse una molécula como un nuevo principio activo, tras obtener resultados favorables de una serie de pruebas biológicas, farmacológicas y toxicológicas; es necesario comenzar con la preformulación.

La preformulación es un conjunto de procedimientos multidiciplinarios cuya finalidad es establecer la fórmula y el proceso de manufactura de una forma farmacéutica.

Históricamente, la preformulación tiene sus orígenes en las décadas de 1950 y 1960, momento en el que varias compañías farmacéuticas implementaron programas de síntesis orgánica con la finalidad de obtener nuevos principios activos, bajo esta premisa, los farmacéuticos se enfrentaron al reto de generar nuevas formulaciones de forma rápida e inteligente.

Unos años antes, a mediados de 1950, se daba prioridad a la obtención de formas farmacéuticas elegantes, sin considerar mucho su estabilidad y biodisponibilidad. En realidad la farmacocinética y la biofarmacia eran ciencias muy jóvenes; en ocasiones, a pesar de que se consideraba a la estabilidad como un parámetro importante al establecer una formulación, las metodologías analíticas carecían de la capacidad de detectar productos de degradación u otros contaminantes.

Así, el desarrollo de la preformulación a través de los años, ha estado fuertemente vinculado a los avances tecnológicos. Actualmente la preparación de nuevos productos farmacéuticos requiere de un trabajo complejo de investigación y desarrollo, en el que especialistas de varios campos, tales como farmacéuticos, químicos, bioquímicos, farmacólogos, matemáticos y economistas, trabajan en

conjunto para resolver los problemas que van surgiendo durante el proceso de formulación. (Banker et al, 2002).

### **1.3 Propósitos y ventajas de la preformulación**

El propósito de la preformulación es determinar experimentalmente todas las variables necesarias para desarrollar una fórmula y un proceso óptimos para la manufactura de una forma farmacéutica. Una gran cantidad de pruebas físicas, químicas, de estabilidad y biofarmacéuticas, entre otras, deben ser realizadas antes de establecer la formulación final.

Una formulación obtenida mediante un buen proceso de preformulación será segura, eficaz y estable; además de que mantendrá sus propiedades aún si se escala su producción a nivel industrial. (Rácz, 1987).

Para los estudios de preformulación, resulta importante la información obtenida durante el desarrollo químico del principio activo, por ejemplo la identidad de posibles impurezas sobre todo en el caso de fármacos nuevos, pues es común que los primeros lotes producidos sean de apenas unos cuantos gramos y que contengan algunos contaminantes provenientes de la síntesis química.

Son tres los objetivos principales de la preformulación, (Banker et al, 2002):

- a) Determinar las características fisicoquímicas del principio activo.
- b) Determinar su perfil cinético de degradación.
- c) Establecer su compatibilidad con los excipientes con los que se desea mezclar.

#### **1.3.1 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL PRINCIPIO ACTIVO**

Las propiedades fisicoquímicas de un fármaco, que lo caracterizan o ejercen una influencia significativa en el desarrollo de una forma farmacéutica se encuentran enumeradas en la siguiente tabla. (Lieberman, 1992)

<i>Cuadro 1.1 Propiedades fisicoquímicas de un PA a determinar durante la preformulación.</i>	
Característica	Información que proporciona
Estructura y peso molecular	Indica la capacidad de la molécula para interactuar con moléculas y sistemas biológicos (membranas, proteínas).
Color	Caracterización del fármaco. Cambios en la coloración de un fármaco son indicativos de degradación.
Olor	Cambios en el olor de un fármaco indican degradación.
Punto de ebullición	Caracterización.
Punto de fusión	Identificación, estabilidad térmica.
Perfil analítico térmico	Caracterización, detección de polimorfismo.
Higroscopicidad	Estabilidad
Actividad óptica	Caracterización estereoquímica.
Reología,	Indica la capacidad del polvo para fluir.
Solubilidad	Caracterización
Perfil de solubilidad en función del pH	Nos permite saber en que sitio del organismo es más propicia su absorción.
Espectro de absorción	Caracterización.
Coefficiente de partición.	Nos indica en que sitio del organismo tiende el fármaco a acumularse y si es capaz de atravesar membranas.
Estabilidad a la humedad	Establecer condiciones de almacenamiento y de proceso
Estabilidad a la luz	Establecer condiciones de almacenamiento y de proceso
Estabilidad térmica	Establecer condiciones de almacenamiento y de proceso
Estabilidad al ambiente (aire)	Establecer condiciones de almacenamiento y de proceso
Perfil de estabilidad en función del pH	Determina la necesidad de utilizar sustancias reguladoras de pH

(Lieberman, 1992)

En bibliografía reciente se puede encontrar una gran cantidad de información acerca de los estudios de preformulación, la importancia de los parámetros antes enlistados y las metodologías para su determinación; por ello solo se presenta una breve descripción de algunos de los parámetros más importantes.

#### *1.3.11 Peso y estructura molecular*

La estructura molecular puede ser determinada mediante diversas técnicas; la elucidación de la estructura es un procedimiento básico; pues determinando la identidad y la reactividad de los grupos funcionales, los investigadores pueden estimar la capacidad de una molécula para ejercer un efecto farmacológico y por su peso, su capacidad de llegar a su sitio de acción.

#### *1.3.12 Color*

El color de un fármaco es inherente a su estructura química; la intensidad del color esta relacionada con la cantidad de instauraciones conjugadas y la presencia de cromóforos tales como  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CO-$ , que intensifican el color.

El color es una propiedad importante porque proporciona información acerca de la estabilidad de la molécula y permite cuantificarla, (espectrofotométricamente o colorimétricamente y con la ayuda de un estándar). (Lieberman, 1992).

#### *1.3.13 Solubilidad*

Un aspecto básico en preformulación es establecer una metodología para preparar disoluciones, generalmente acuosas, del fármaco a formular. La solubilidad puede ser fácilmente determinada colocando un exceso de sólido en el líquido de prueba, ya sea agua o algún otro disolvente, y cuantificando la cantidad disuelta al equilibrio. El equilibrio usualmente se establece tras un periodo de agitación que fluctúa entre las 24 y las 72 horas a una temperatura entre los 25° C y los 37° C. En este punto hay que recordar que la solubilidad es una propiedad que depende fuertemente de las condiciones del disolvente, como son: la polaridad y el pH.

Otra forma de determinar la solubilidad de un principio activo nuevo, es mediante el uso de ecuaciones. En bibliografía reciente existen una gran cantidad de sistemas para la predicción de la solubilidad con un grado aceptable de confiabilidad, que además hacen innecesaria la realización de múltiples

experimentos. Por ejemplo Bodor y Huang, desarrollaron una ecuación semiempírica basada en 20 variables que permitió calcular la solubilidad de 331 compuestos de manera confiable.

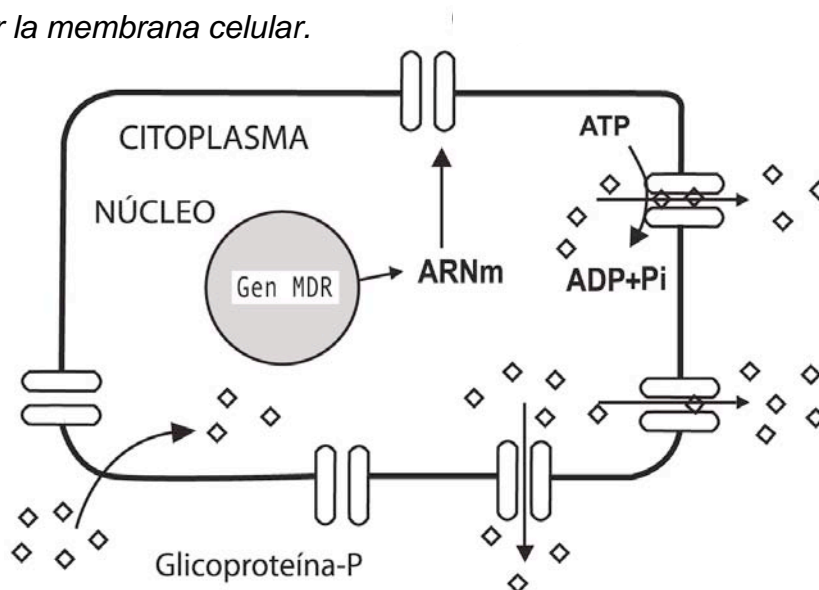
#### 1.3.14 Higroscopicidad

La higroscopicidad se puede determinar fácilmente mediante la exposición del fármaco a una atmósfera de humedad conocida; el análisis gravimétrico de la muestra nos indica la cantidad de humedad que retuvo. Es importante mencionar que esta metodología no es la adecuada para sustancias que se descompongan con la humedad, (por ejemplo sustancias efervescentes). Conocer esta propiedad nos permite, entre otras cosas, seleccionar entre varias muestras la sal del fármaco más adecuada para formular. (Banker et al, 2002).

#### 1.3.15 Coeficiente de partición

El coeficiente de partición es una de las propiedades más importantes a determinar durante el programa de preformulación; junto con la solubilidad, este parámetro permitirá realizar predicciones bastante precisas acerca de la capacidad del fármaco para atravesar membranas biológicas, (Banker et al, 2002); (es importante tomar en cuenta que existen excepciones en los que el coeficiente de partición no es una buena medida, tal es el caso de los fármacos que pueden ser expulsados del medio intracelular por la glicoproteína P).

Figura 1.3 Importancia de la Glicoproteína P en la capacidad de un principio activo para atravesar la membrana celular.



La glicoproteína P es una proteína de membrana celular que funciona como una bomba de eflujo dependiente de ATP. Las proteínas de eflujo son capaces de transportar activamente una gran variedad de compuestos hacia el exterior de la célula. Son las responsables de la multirresistencia a fármacos y están codificadas por el gen MDR (multidrug resistance). (Avendaño, 2001)

Las proteínas de eflujo junto con la solubilidad y la permeabilidad determinan la capacidad que tiene un compuesto de atravesar las membranas biológicas.

La metodología más sencilla para determinar el coeficiente de partición consiste en determinar la solubilidad del fármaco de prueba en agua y en octanol, otros disolventes orgánicos pueden ser utilizados, pero se prefiere al octanol porque además de ser poco tóxico, ofrece un medio más parecido al de una membrana biológica. Finalmente se utiliza la ecuación siguiente. (Banker et al, 2002).

$$K = \frac{S_o}{S_w}$$

Dónde  $S_o$  es la solubilidad del fármaco en octanol y  $S_w$  es la solubilidad del fármaco en agua.

### 1.3.16 Estabilidad

Resulta indispensable conocer la estabilidad de un principio activo porque esto nos permite tomar las medidas necesarias para protegerlo del medio ambiente y asegurar así, que sus características se mantendrán inalterables desde el proceso de fabricación hasta el consumo. Con la finalidad de conocer las variables ambientales que afectan la estabilidad del fármaco, se han desarrollado diversas pruebas, en sólido y en disolución, para establecer el efecto del calor, la luz y el oxígeno en la estabilidad del principio activo. (Banker et al, 2002). En el cuadro 1.2 se resumen las metodologías para determinar la estabilidad del fármaco frente a tres factores ambientales, y las estrategias que se siguen para protegerlo de la degradación.

Cuadro 1.2 Evaluación de la estabilidad de un principio activo

<b>EFFECTO DEL CALOR EN LA ESTABILIDAD DE PRINCIPIOS ACTIVOS</b>	
<i>Metodología de análisis de la estabilidad</i>	<i>Soluciones</i>
<p>Muestras de peso conocido se colocan en contenedores de vidrio. Las siguientes son variaciones típicas en la metodología:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Se coloca únicamente el fármaco.</li> <li>2. Se adiciona un 5% de agua al fármaco.</li> <li>3. Fármaco en equilibrio con un 75% de humedad relativa.</li> <li>4. Atmósferas de nitrógeno o argón se adicionan a la muestra.</li> </ol> <p>Los contenedores se sellan y se colocan a diversas condiciones de temperatura. Las condiciones más utilizadas son las siguientes: refrigeración, temperatura ambiente, 55° C, 75° C y 95° C. La prueba tiene una duración promedio de 8 semanas.</p>	<p>La refrigeración es la solución más común debido a que es más económica; en el caso de soluciones la liofilización es otra opción, aunque menos recurrente debido a su alto costo.</p>
<b>EFFECTO DE LA LUZ EN LA ESTABILIDAD DE PRINCIPIOS ACTIVOS.</b>	
<i>Metodología de análisis de la estabilidad</i>	<i>Soluciones</i>
<p>En el caso de sólidos, estos se extienden en cajas de petri abiertas. Los controles son colocados en cajas que impidan el contacto del sólido con la luz. Los líquidos y los semisólidos se guardan en contenedores translúcidos y los controles con protección a la luz. Las muestras se colocan en cabinas a temperatura, atmósfera y luz controladas durante 4 semanas. Cada semana se inspeccionan en busca de cambios en el aspecto, color, pH, precipitación o alguna otra señal de descomposición. Si estas señales se presentan, el fármaco es inestable a la luz.</p>	<p>En el caso de sólidos: uso de cápsulas de colores oscuros, recubrimiento en tabletas. Para sólidos, semisólidos y líquidos: uso de materiales de empaque adecuados, que permitan proteger al fármaco de la luz por ejemplo frascos de color ámbar.</p>



<b>EFEECTO DEL OXÍGENO EN LA ESTABILIDAD DE PRINCIPIOS ACTIVOS.</b>	
<i>Metodología de análisis de la estabilidad</i>	<i>Soluciones</i>
Se colocan muestras pequeñas en recipientes apropiados. A los controles se les adiciona una atmósfera inerte antes de ser sellados. Las muestras se dejan abiertas a condiciones de humedad controladas durante una semana a una temperatura de 75° C. Cambios en el color o pérdida de potencia son indicadores de oxidación.	Purgar la suspensión, la solución y el contenedor con un gas inerte. Uso de antioxidantes como bisulfito de sodio, ácido cítrico, etc. Uso de contenedores monodosis.

(Lieberman, 1992)

#### **1.4 COMPATIBILIDAD FÁRMACO EXCIPIENTE**

Los excipientes desempeñan muchos papeles y son la parte de la formulación que presenta más dificultades. Se necesitan para estabilizar el principio activo, protegerlo del medio ambiente y dosificarlo. También se les utiliza para incrementar la biodisponibilidad y controlar la liberación de manera reproducible (Lieberman, 1992).

Los investigadores que desarrollaron las primeras formas farmacéuticas, no contaban con muchas de las herramientas que hoy consideramos indispensables para la formulación. Estudios posteriores de algunas de estas primeras formulaciones, revelaron problemas de incompatibilidad con los excipientes utilizados, por lo que resulto necesario cambiar la formula. Cuando se tiene una formulación con 10 componentes, reformular puede significar un gran problema.

Estos primeros problemas de incompatibilidad crearon la necesidad, de poner en práctica estudios para detectar incompatibilidades antes de comenzar a formular. (Banker et al, 2002). Dos de las metodologías más comunes para detectar incompatibilidades son la cromatografía en capa fina (CCF o TLC por sus siglas en inglés) (Lieberman, 1992) y la calorimetría diferencial de barrido (CDF o DSC por sus siglas en inglés). (Swarbrick, 2006).

Las incompatibilidades que se presentan dentro de la manufactura de la forma farmacéutica suelen ser más complicadas que las químicas. Por ejemplo, el desarrollo de algunos comprimidos ha mostrado variaciones en el tiempo de desintegración, dependiendo del tipo de almidón empleado. (Rácz, 1987).

El análisis de la compatibilidad ofrece muchas ventajas, pues permite desarrollar fórmulas estables rápidamente. Generalmente se prueban varias mezclas binarias fármaco-excipiente mediante ensayos de estabilidad acelerada. Los excipientes que exhiben compatibilidad física y química con el fármaco son recomendados para el desarrollo de la formulación. (Banker et al, 2002).

Existen dos desventajas importantes relacionadas con el uso de mezclas binarias. La mayor desventaja, en el caso de excipientes nuevos o poco estudiados, es que no toman en cuenta la posibilidad de que existan incompatibilidades entre los excipientes de la formulación. Los problemas de incompatibilidad entre excipientes han sido ampliamente publicados. Por ejemplo, la lactosa, un excipiente comúnmente utilizado en formas farmacéuticas sólidas, posee un grupo aldehído capaz de reaccionar con aminas primarias y secundarias a través de una condensación de tipo Maillard. Otro ejemplo lo constituyen las sales de calcio, que son incompatibles con todo tipo de ácidos y con las tetraciclinas. Más detalles sobre reactividad e incompatibilidad de excipientes pueden ser encontrados en los manuales de excipientes farmacéuticos. (Swarbrick, 2006).

La segunda desventaja del uso de mezclas binarias, es que si se decidiera probar la compatibilidad entre excipientes, la cantidad de ensayos a realizar se incrementaría sustancialmente conforme aumentaran los excipientes de prueba.

Ambas desventajas pueden ser fácilmente superadas mediante el uso de métodos estadísticos, el más utilizado es el diseño matemático Plackett Burman. Este se compone de una fracción específica de un diseño factorial  $2^P$ . La mayor ventaja que ofrece este modelo es que permite la determinación del efecto de muchas variables con un mínimo número de experimentos. Otras de las ventajas de este diseño son las siguientes:

1. Aumenta la eficiencia.
2. Cada variable es probada a dos niveles.
3. Cada variable es probada en presencia de todas las otras variables, al contrario de las mezclas binarias.
4. Los experimentos proveen suficientes datos para estimar la variabilidad.
5. El diseño factorial requiere de pocos experimentos para proveer una gran cantidad de información.

En el Anexo A, se ejemplifica un diseño Placket Burman.

Por lo tanto, los diseños matemáticos de este tipo se recomiendan ampliamente cuando se desea probar de forma experimental la compatibilidad entre excipientes. (Lieberman, 1992).

# CAPÍTULO II

## Estudios de Compatibilidad: Metodologías Comunes

### 2.1 INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las interacciones entre el fármaco y los excipientes es esencial al inicio de la formulación de un producto. Los estudios de compatibilidad se llevan a cabo en condiciones aceleradas que involucran humedad y temperaturas controladas. Las muestras a probar se componen de mezclas fármaco excipiente 50/50; los polvos pueden ser mezclados, granulados o compactados para acelerar cualquier posible interacción. Las muestras pueden ser colocadas en recipientes abiertos o en viales para imitar las condiciones de empaque. La evaluación de las mezclas incluye:

- Inspección visual: búsqueda de cambios en la textura o el color.
- HPLC y TLC cualitativos.
- Análisis térmico: calorimetría diferencial de barrido, microcalorimetría, análisis termogravimétrico, etc.

Los estudios de compatibilidad deben ser utilizados para evaluar tanto los posibles excipientes como la formulación final. (Swarbrick, 2006).

### 2.2 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Las técnicas de análisis térmico, en donde una propiedad física es monitoreada en función de la temperatura o del tiempo en el que el analito es calentado o enfriado bajo condiciones controladas, son técnicas fundamentales para la caracterización de compuestos. Dependiendo de la información que se desee obtener, estos métodos pueden ser complementados con otras técnicas analíticas, como la cromatografía y la espectroscopia. La introducción de la automatización incrementa considerablemente las ventajas de estos métodos. (Swarbrick, 2006).

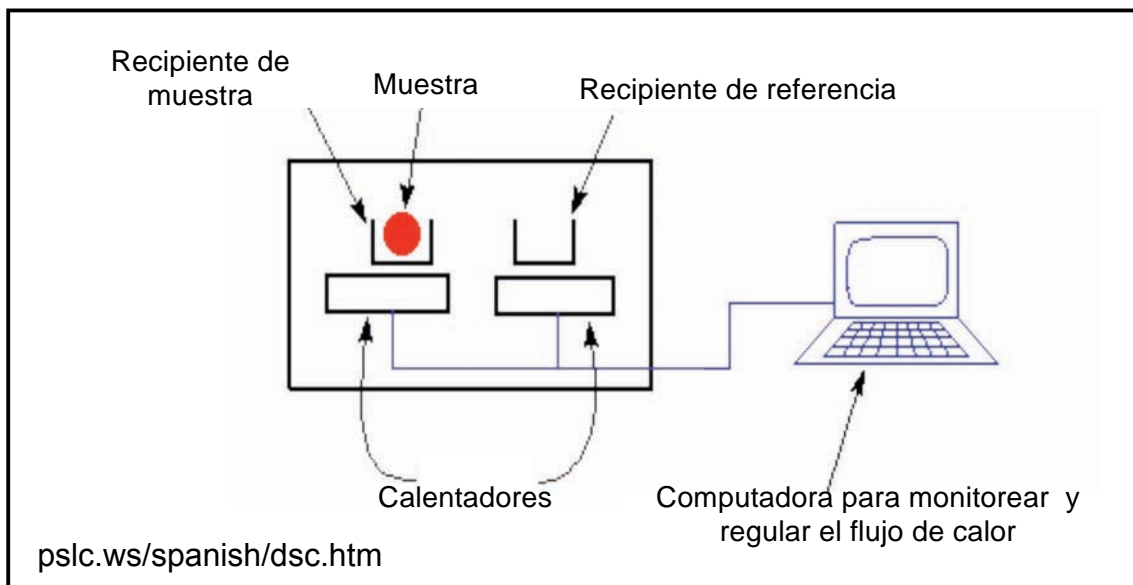
#### 2.2.1 *Fundamentos de la técnica.*

Cuando un material es calentado o enfriado, se genera un cambio en su estructura o composición. Estas transformaciones están relacionadas con un intercambio de

calor. La calorimetría diferencial de barrido DSC, es una técnica utilizada para medir el flujo de calor entre la muestra y el medio, así como para determinar la temperatura a la que se da un fenómeno térmico durante un cambio controlado de temperatura. El principio de la DSC es el siguiente: dos hornos son calentados linealmente, uno de ellos contiene un recipiente con la muestra y el otro contiene un recipiente vacío que se toma como referencia. Si no ocurren cambios físicos en la muestra durante el calentamiento, la muestra y la referencia tendrán la misma temperatura. Pero si ocurre un cambio de fase en la muestra, la temperatura de esta se mantendrá constante, mientras que la temperatura de la referencia seguirá aumentando. Por lo que las temperaturas de la muestra y la referencia serán diferentes. Existen dos métodos para cuantificar estos cambios de temperatura, el de “DSC de flujo de calor” y el “DSC de potencia compensada”.

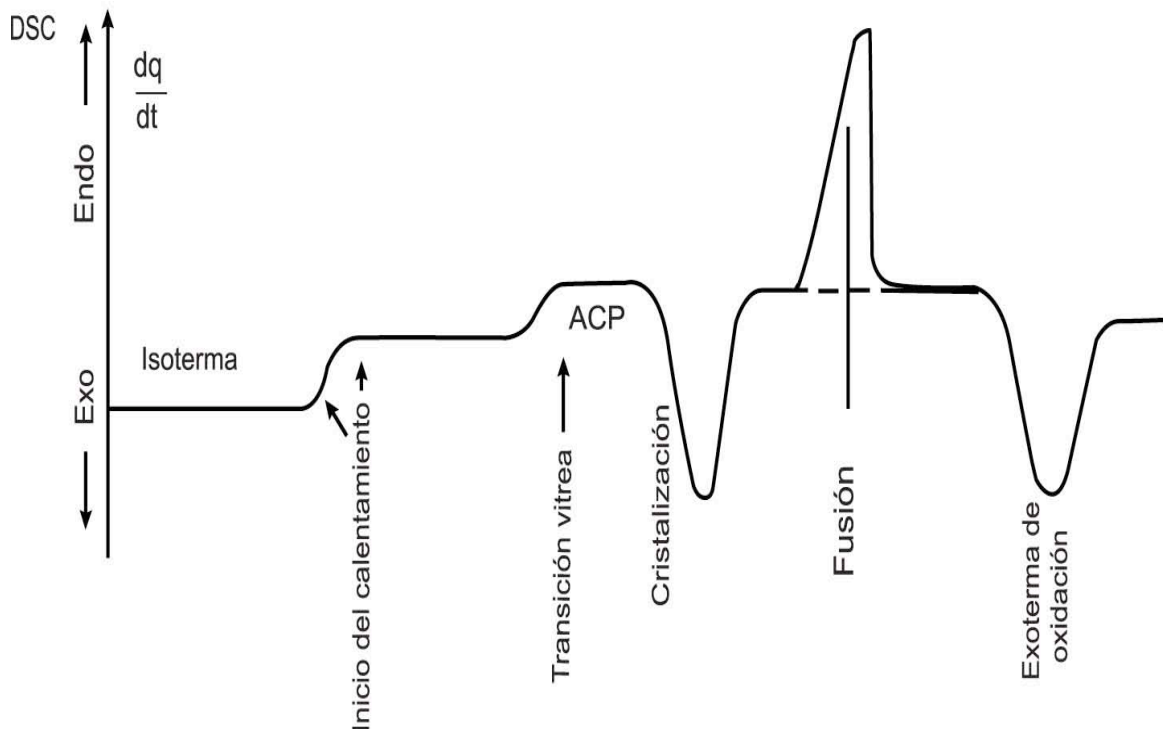
En el primer caso se mide la variación en el flujo de calor entre la muestra y la referencia cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura en una atmósfera controlada. En el segundo caso se mide la potencia que hay que aportar o retirar del sistema para que la muestra y la referencia se mantengan a la misma temperatura cuando dicha muestra se somete a un programa de temperatura en una atmósfera controlada. En el anexo B se muestra una tabla con algunos de los proveedores de este tipo de equipos.

*Figura 2.1. Esquema de un equipo convencional para DSC*



Al gráfico obtenido mediante DSC se le conoce como termograma. El área bajo la curva es directamente proporcional al total de energía absorbida o liberada por la muestra. En el eje de las abcisas se representa la cantidad de calor transferido ( $dq/dt$ ) a un tiempo dado. (Swarbrick, 2006).

Figura 2.2 Termograma teórico.



Por convención debe indicarse en que parte del eje de las abcisas se encuentran los cambios endotérmicos y exotérmicos. En la figura 2.2 los cambios endotérmicos se encuentran en la mitad superior del eje de las abcisas y los exotérmicos en la mitad inferior. En ocasiones se indica el tipo de atmósfera y la velocidad de calentamiento a la que se realiza el análisis, sobre el eje de las ordenadas se coloca el rango de temperaturas de trabajo. (Swarbrick, 2006).

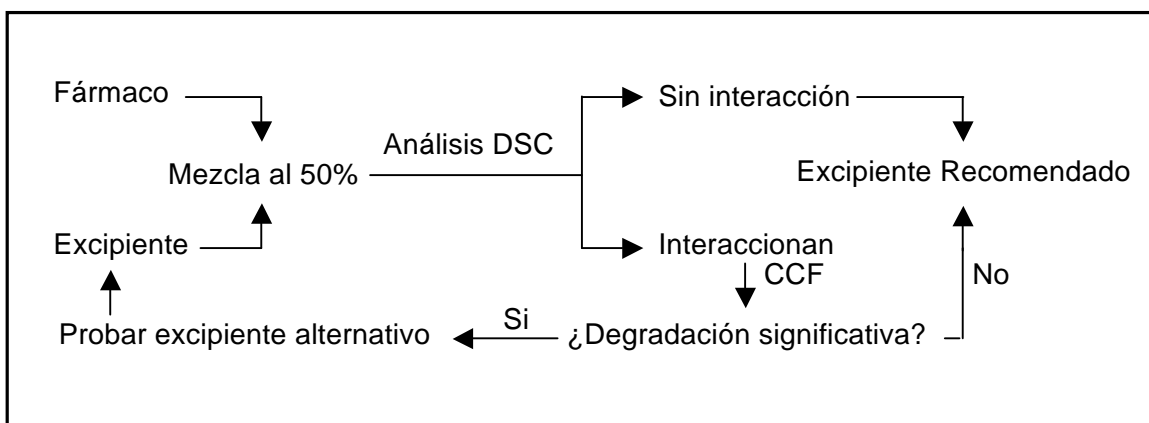
### 2.2.2 Evaluación de la compatibilidad

Para valorar las interacciones fármaco-excipiente durante la preformulación se necesitan 5 mg de fármaco en una mezcla al 50% con el excipiente, para aumentar las posibilidades de observar alguna interacción. Algunos autores recomiendan adicionar agua en una proporción 2:1 líquido-sólido para propiciar la

interacción. Las mezclas deben probarse en una atmósfera de nitrógeno para anular los efectos oxidantes y pirolíticos, a una velocidad de calentamiento estandarizada (2,5 a 10° C/min) en el equipo de DSC, dentro de un intervalo de temperaturas que incluyan cualquier cambio térmico que puedan producir el fármaco y el excipiente. Por investigaciones previas sobre la pureza, el polimorfismo y los solvatos se conocerán el intervalo de fusión y cualquier otra transición del fármaco. Así mismo es conveniente disponer de los termogramas de los excipientes de prueba para establecer comparaciones.

Básicamente, las propiedades térmicas de una mezcla equivalen a la suma de las propiedades de los componentes individuales, por lo que el termograma de la mezcla puede compararse con los termogramas individuales del fármaco y los excipientes. Cualquier interacción se traducirá en cambios en las temperaturas de transición de estado, cambios en la línea basal, ensanchamientos de un cambio exo o endotérmico o la aparición de una nueva transición. En general, la presencia de procesos térmicos nuevos indica incompatibilidad. Si se sospecha una posible interacción, pero los cambios térmicos son muy pequeños, debe recurrirse a la CCF para confirmar la incompatibilidad. En la Figura 2.3 se presenta un esquema que indica en que casos un excipiente puede o no ser recomendado para ser usado en la formulación tras un análisis DSC.

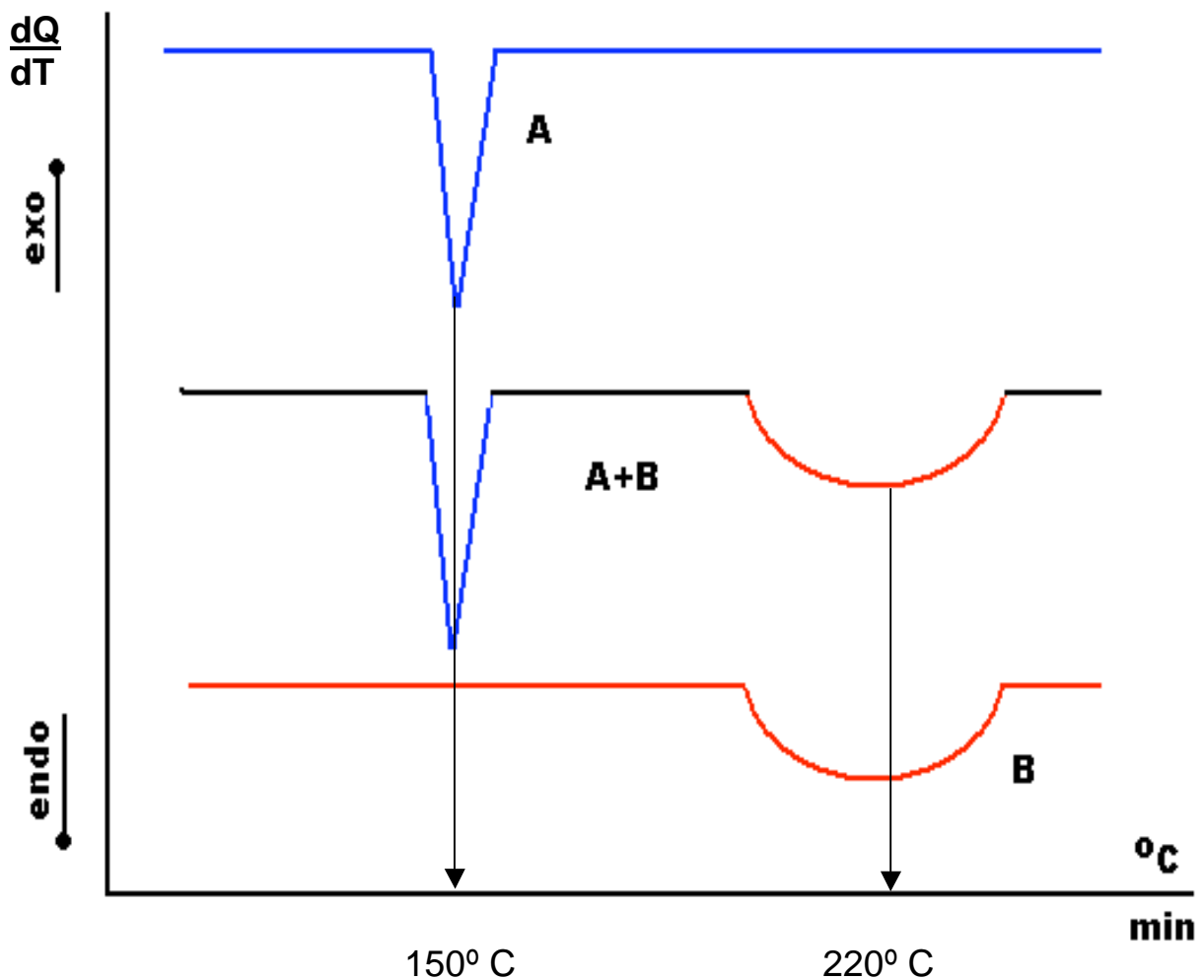
*Figura 2.3 Esquema para identificar los excipientes químicamente compatibles mediante DSC y TLC confirmativa. (Remington, 2003)*



En muchos artículos recientes, se ha reportado el uso de la DSC como metodología para detectar incompatibilidades, además de que se profundiza acerca de las ventajas, desventajas y otras aplicaciones de esta técnica.

A continuación se muestran dos termogramas teóricos para ejemplificar una interacción y una no interacción. Posteriormente se presentan 5 ejemplos de termogramas de la glipizida (Verma y Garg 2005), un fármaco hipoglucemiante, en combinación con varios excipientes con la finalidad de detectar incompatibilidades.

Figura 2.4 Termograma DSC del Fármaco A y el excipiente B

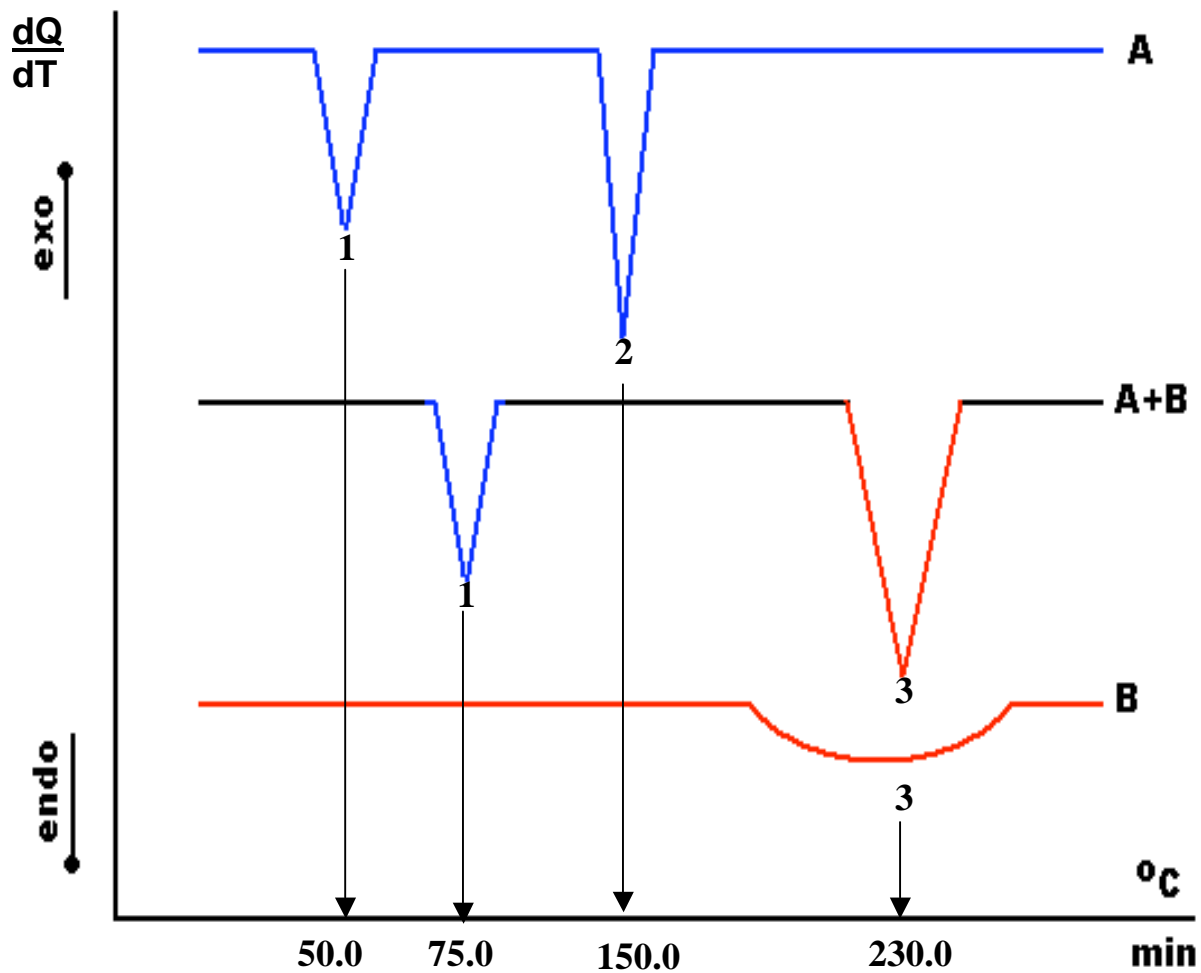


En esta figura, se muestran a los extremos, los termogramas teóricos del fármaco A, con una endoterma a los 150° C y el excipiente B, con una endoterma a los 220° C. Para poder realizar el análisis de compatibilidad, es necesario hacer la



mezcla A+B y someterla a prueba en el equipo de DSC. El gráfico central es el que representa el termograma de la mezcla, en este se aprecian claramente las endotermas individuales de A y B sin modificaciones considerables en la forma, tamaño o posición, por lo que concluimos que A y B, no interactúan. A partir de este resultado podemos seleccionar a B, para la formulación de A, teniendo la seguridad de que no presentaran incompatibilidades.

Figura 2.5 Termograma DSC del Fármaco A y el excipiente B

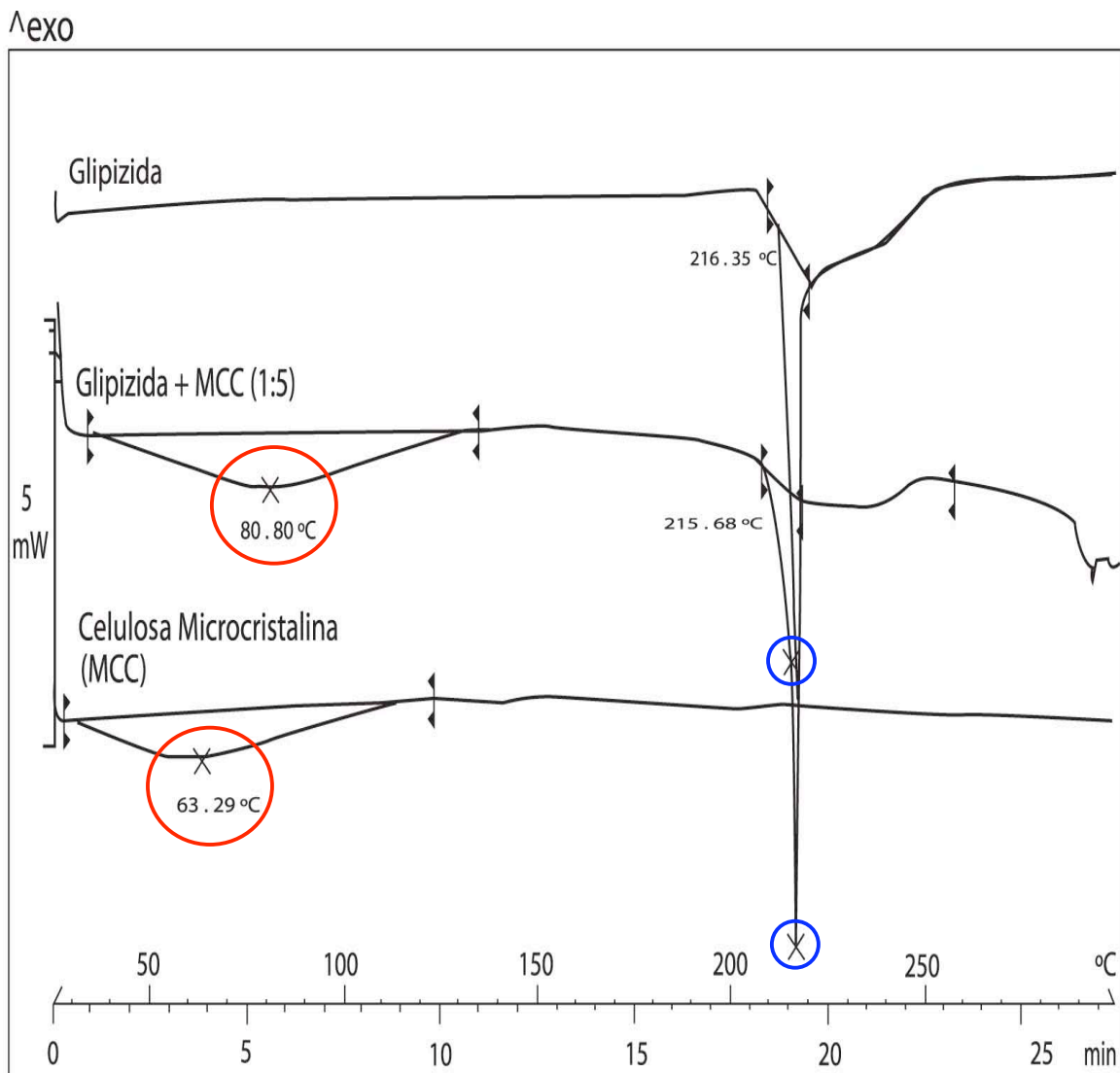


De igual forma que en la figura anterior, se muestran los termogramas del fármaco A, que presenta dos picos (el primero a 50.0° C y el segundo a 150° C) y el excipiente B, que presenta un solo pico a 230° C. En este caso, el termograma de la mezcla A+B, no conserva las propiedades de los componentes individuales. El primer pico de A, que debería encontrarse a 50° C, se encuentra hasta los 75° C; mientras que el segundo pico de A desaparece en el termograma de la muestra.



Finalmente, el pico de C (3), a pesar de que se presenta a los 230° C, cambia de forma. El corrimiento de una señal, su desaparición, su cambio de posición o la aparición de una nueva señal son indicativos de interacción, puesto que sugieren la formación de productos nuevos, con características diferentes a las de la muestra. En este caso, debe descartarse el uso de B para la formulación de A, de lo contrario es seguro que interaccionaran causando problemas en la estabilidad, seguridad y eficacia de la forma farmacéutica en la que se combinen

Figura 2.6 Termograma DSC de la glipizida y la celulosa microcristalina.(23)



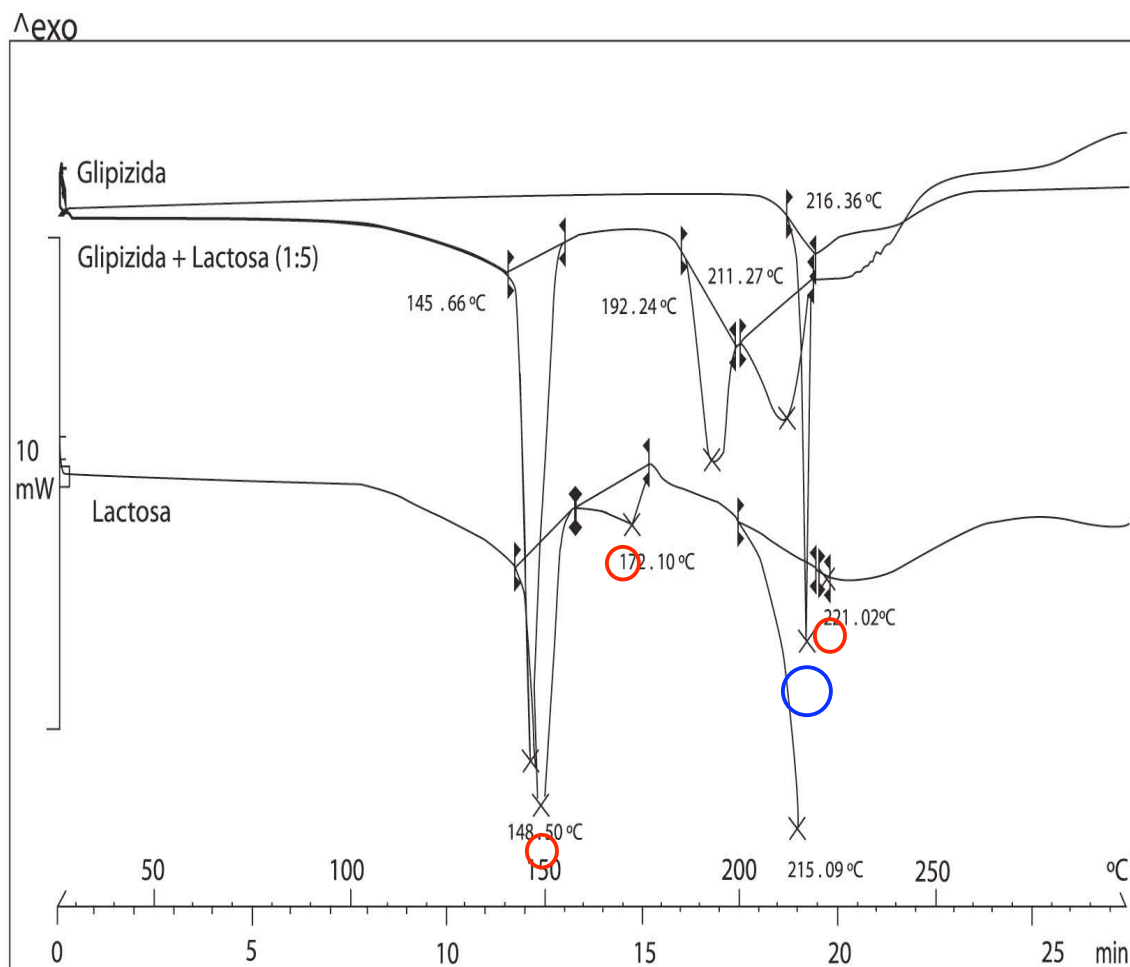
El termograma de la glipizida presenta un solo pico endotérmico (de fusión) a los 215.68° C. Este pico es característico de la glipizida y será uno de los parámetros a considerar para definir si existe o no interacción entre el fármaco y el excipiente



de análisis. Modificaciones considerables en la forma, tamaño o posición de la endoterma indicaran interacción y por lo tanto incompatibilidad.

El termograma de la celulosa microcristalina MCC, muestra una amplia endoterma a los 63.29° C (comienza a los 29.98° C y termina a los 104.76° C), que puede atribuirse a la pérdida de agua adsorbida por el material. El termograma de la mezcla conserva intactas las endotermas de las muestras, por lo que se concluye que no hay interacción.

Figura 2.7 Termograma DSC de la glipizida y la lactosa. (23)

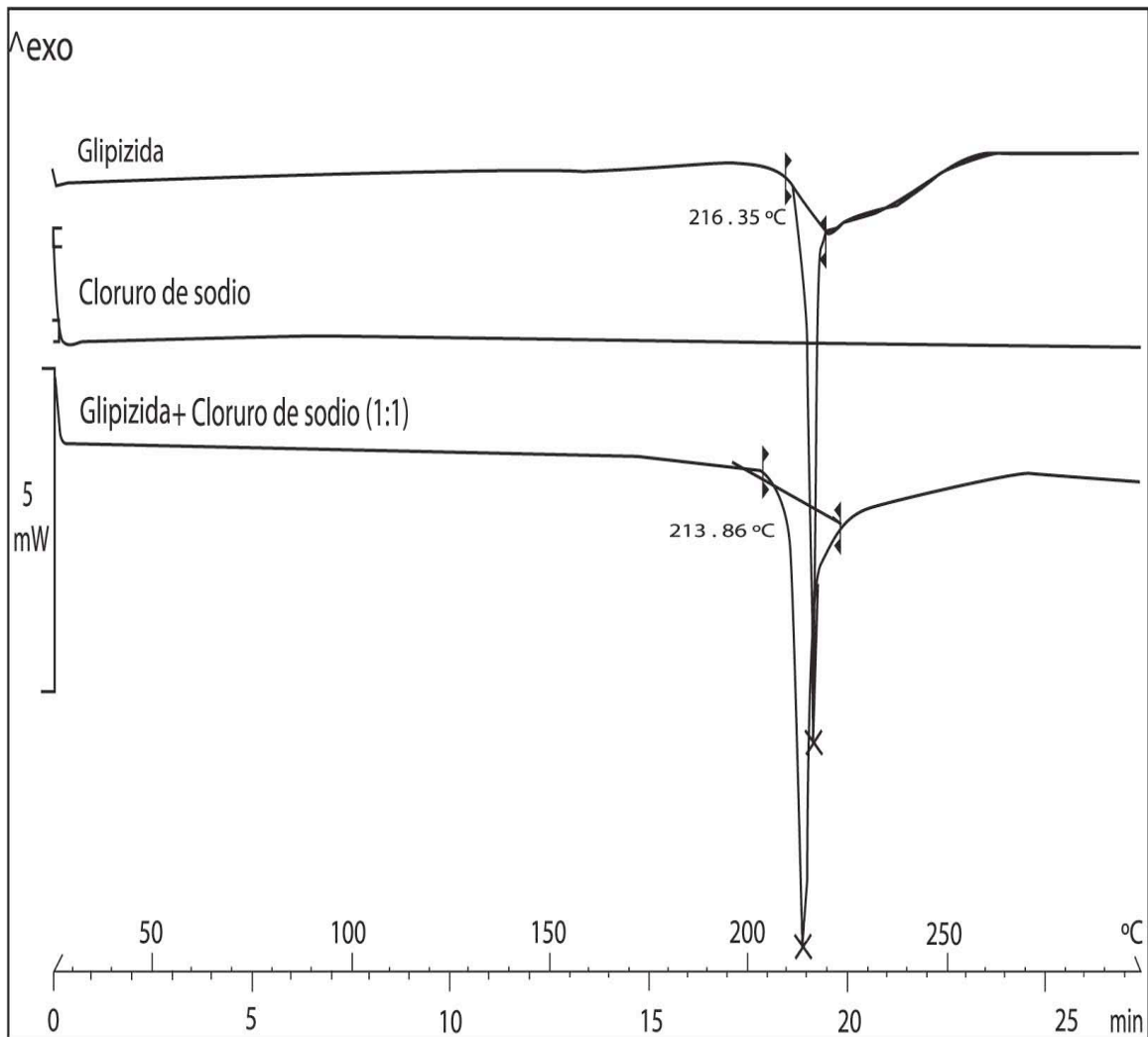


En este termograma, la lactosa presenta tres picos endotérmicos principales, dos cercanos a los 150° C y el último a los 172.10° C (los tres en rojo). La glipizida por su parte, muestra su endoterma de fusión característica a los 216.36° C (en azul). Mientras que en la mezcla nos encontramos con 3 picos, uno a los 145.66° C, otro a los 192.24° C y el último a los 211.27° C.



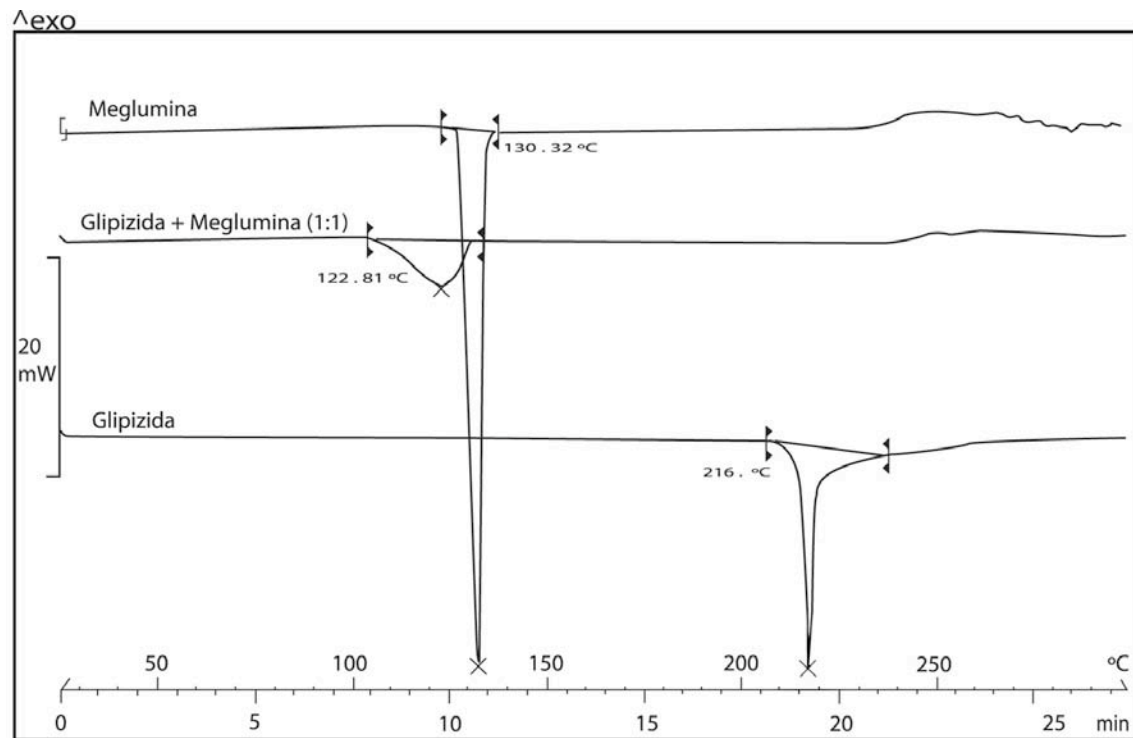
Al observar detenidamente el gráfico, observamos que los picos de la muestra no corresponden en tamaño, forma ni posición con los picos de las sustancias individuales; por lo tanto, la lactosa es incompatible con la glipizida y no podemos utilizarla como diluyente para la fabricación de una forma farmacéutica estable.

Figura 2.8 Termograma DSC de la glipizida y el cloruro de sodio. (23)



En el termograma del cloruro de sodio, no hay picos en el rango de temperaturas que comprende de los 25° C a los 300° C. La endoterma de fusión de la glipizida se observa claramente cuando esta se mezcla con el NaCl. Por lo que se concluye que la glipizida es compatible con el cloruro de sodio.

Figura 2.9 Termograma DSC de la glipizida y la meglumina. (23)



Un pico endotérmico fuerte se observa en el termograma de la meglumina a 130.32 $^{\circ}$  C. En el termograma de la mezcla, esta endoterma se ensancha y se presenta a una temperatura menor (122.81 $^{\circ}$  C) además, la endoterma de fusión de la glipizida desaparece en el termograma de la mezcla. Lo anterior demuestra que la glipizida es incompatible con la meglumina.

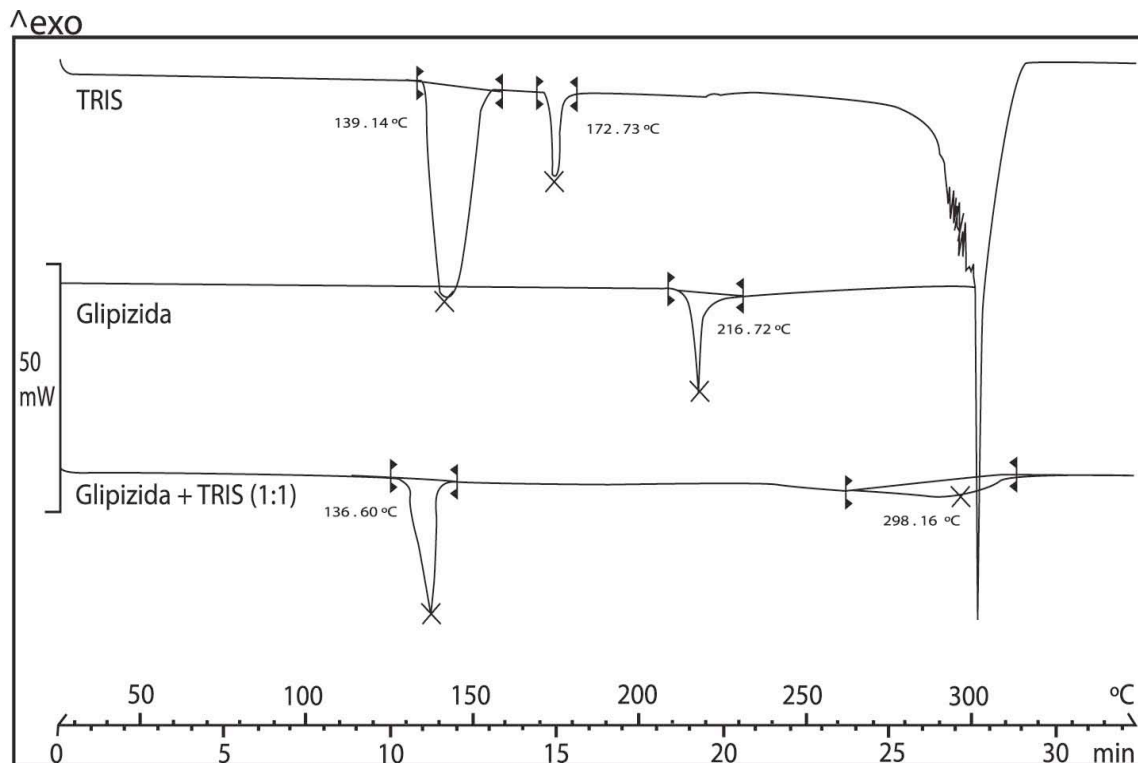
La mayor ventaja de la DSC sobre otras pruebas rutinarias de compatibilidad tradicionales, es la rapidez con la que se pueden obtener los resultados en comparación con otras técnicas. Entre las desventajas se encuentran que:

- La DSC no es una técnica absoluta, por ejemplo es incapaz de distinguir incompatibilidad en el caso de la formación de mezclas eutécticas o la pérdida de agua de cristalización. Por lo que requiere de técnicas comprobatorias, por ejemplo: IR, DRX, técnicas cromatográficas, etc.
- Si la forma de degradación del producto varía con la temperatura y los cambios observados a temperaturas elevadas no reflejan el mecanismo de

degradación que tiene lugar en las condiciones normales de almacenamiento (temperatura ambiente). (Remington, 2003).

Un ejemplo de las desventajas de esta técnica es el termograma DSC de la glipizida y el TRIS

Figura 2.10 Termograma DSC de la glipizida y el TRIS. (23)



El termograma del TRIS muestra dos picos endotérmicos a 139.14 (probablemente debido a la evaporación de humedad adsorbida) y a 172.73 $^{\circ}C$  (punto de fusión del TRIS) seguido de una endoterma a 300 $^{\circ}C$ , que probablemente sea la descomposición del TRIS. En el termograma de la mezcla, el pico del TRIS se ensancha a una temperatura ligeramente menor (135.60 $^{\circ}C$ ). Además, el pico de la glipizida que se observa a 296.16 $^{\circ}C$  desaparece en el termograma de la muestra.

Estos resultados llevan a creer que existe algún tipo de incompatibilidad entre la glipizida y el TRIS. Sin embargo, el espectro IR de la mezcla glipizida-TRIS, mostró la presencia de las bandas características de la glipizida. No aparecieron nuevas bandas en el espectro IR. Lo anterior es fuerte evidencia de que la



estructura de la glizipida no sufrió ningún cambio, por lo que no hay interacción química entre este fármaco y el TRIS. (Verma y Garg, 2005)

### 2.3 METODOLOGÍA TRADICIONAL: CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

La metodología tradicional para detectar incompatibilidades fármaco-excipientes consiste en probar mezclas binarias 1:1 del fármaco con diversos excipientes, empleando temperatura elevada y adicionando agua para acelerar posibles interacciones. Las mezclas se almacenan entre 2 a 4 semanas aproximadamente a diferentes temperaturas y después se analizan mediante cromatografía en capa fina, en búsqueda de productos de reacción. (Banker et al, 2002).

El procedimiento es el que se describe a continuación:

1. Se preparan mezclas de 1:1 del fármaco y el excipiente (Rácz, 1987) y se colocan en viales de vidrio que se sellan herméticamente, a menudo se utiliza cera de carnauba como sello, ya que resiste temperaturas de hasta 70° C (Banker, 1995). Es indispensable tener controles del fármaco y el excipiente por separado. Existen muchas variaciones en este primer paso, las más importantes son:

- Adicionar un 5% de humedad a la mezcla. (Rácz, 1987).
- La mezcla se puede granular o compactar. (Swarbrick, 2006)
- Usar viales ámbar o viales transparentes.
- Purgar los viales con un gas inerte.

Estas variaciones buscan aumentar la probabilidad de interacción entre el fármaco y los excipientes, y eliminar la interferencia de otras variables, como la luz y el oxígeno. (Remington, 2003)

2. Mantener las muestras a diferentes temperaturas, durante un periodo de al menos 10 días. Aquí se pueden encontrar reportadas más variaciones. Por lo regular, se recomienda tener 3 series de muestras: una en refrigeración, otra a temperatura ambiente y la última a temperaturas de entre 40° C y 60° C. Aunque hay casos en los que solo se prueba una serie de muestras a alta



temperatura (entre 40° C y 60° C), con la finalidad de realizar un estudio de estabilidad acelerada. El mínimo tiempo de prueba sugerido es de 10 días, mientras que el máximo es de 1 mes. (Banker, 1995).

En nuestro país la NOM-073-SSA1-1993, *Estabilidad de Medicamentos*, puede ser utilizada como referencia para elegir las condiciones para realizar los experimentos. Pues se puede inferir que, si los excipientes no interactúan con el fármaco bajo las condiciones establecidas en la NOM, serán compatibles con el fármaco y adicionalmente cumplirán con las características de estabilidad requeridas en ella. Así la forma farmacéutica preparada tendrá más posibilidades de cumplir con los requisitos establecidos por la normatividad nacional.

*Cuadro 2.1 Condiciones de estudios de estabilidad acelerada para fármacos*

Forma farmacéutica	Temperatura	Humedad Relativa
Sólidos	40° C $\pm$ 2° C	75% $\pm$ 5%
Líquidos y semisólidos	40° C $\pm$ 2° C	Ambiental
Todas	30° C $\pm$ 2° C	Ambiental

3. Observar la apariencia de las muestras en búsqueda de licuefacción, cambios en la coloración, formación de gas, cambios en el olor, etc.
4. Analizar las muestras mediante un método cromatográfico.





El uso de esta metodología ha permitido la detección temprana de incompatibilidades con buena correlación, empleando mezclas binarias. Los mayores inconvenientes de este procedimiento son:

- Las muestras deben almacenarse durante periodos prolongados de tiempo.
- No es sencillo elegir adecuadamente las condiciones a las que se correrá la muestra en la cromatografía.

## CAPÍTULO III

### Estudios de compatibilidad y cromatografía en capa fina.

#### **3.1 Las ventajas de la cromatografía en capa fina (TLC)**

La metodología tradicional para estudiar la compatibilidad de mezclas fármaco excipiente, involucra el empleo de análisis cromatográficos con la finalidad de identificar productos diferentes al fármaco y al excipiente (Remington, 2006). La cromatografía es un método de análisis en el cual un soporte químicamente inerte, conocido como fase estacionaria (FE), y un líquido o una mezcla de líquidos, conocidos como fase móvil (FM), interactúan para separar los componentes de una mezcla. (Sherman, 2003). La muestra se coloca al inicio de la placa o columna, esperando que su o sus componentes migren parcial o totalmente junto con la fase móvil, dependiendo de su afinidad a cualquiera de las dos fases (Bernard, 1999).

De entre las diferentes técnicas cromatográficas, las más utilizadas en estudios de compatibilidad son la cromatografía en capa fina (CCF o TLC) y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC o CLAE).

En el caso de la cromatografía en capa fina, la FE es un sólido finamente dividido, que se esparce como una delgada capa sobre una placa rígida de soporte, por su parte la fase móvil es un disolvente que debe migrar por capilaridad a través del soporte. (Remington, 2006).

Aunque no es posible obtener eficiencias de separación equivalentes a las que se logran con otras metodologías cromatográficas, por ejemplo HPLC, La TLC posee las ventajas de rapidez, versatilidad, sencillez y bajo costo. Para realizar las separaciones por TLC no se requiere ningún equipo complejo y el analista puede modificar las condiciones experimentales de manera fácil y rápida. (Geiss, 1987), (Sherma, 2003).

Cuadro 3.1 Comparación entre la TLC y la HPLC

TLC	HPLC
Menor eficiencia, muy bajo costo	Alta eficiencia, costo considerablemente mayor.
Bajo nivel de automatización.	Completamente automatizado.
La velocidad de flujo de la fase móvil no puede controlarse.	La velocidad de flujo de la fase móvil es fácil de controlar.
Se utilizan pequeños volúmenes de fase móvil.	Se utilizan volúmenes grandes de fase móvil.
Al iniciar la separación, la fase móvil se encuentra con una columna seca.	Cuando se inyecta la muestra, la columna se encuentra en equilibrio con la fase móvil.
Corto tiempo de análisis.	Tiempo largo de análisis.
La detección de las muestras es muy versátil y flexible.	La detección de las muestras es poco flexible.
Puede utilizarse una gran variedad de disolventes para preparar la fase móvil	Pocos disolventes pueden ser utilizados.
No pueden utilizarse fases móviles que no mojen la fase estacionaria.	Pueden utilizarse fases móviles que no mojen la columna.
Existe una mayor variedad de fases estacionarias comerciales, y éstas pueden ser fácilmente impregnadas con compuestos selectivos.	No es sencillo modificar las columnas comerciales en el laboratorio.
Una misma placa puede ser revelada por varios métodos.	No puede revelarse una columna por varios métodos.
Limites de detección similares en ambos procedimientos.	

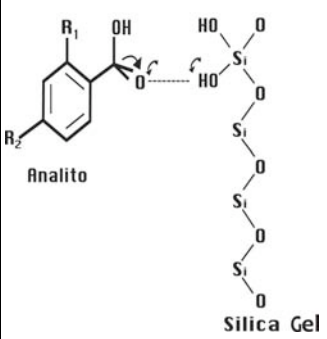
### 3.2 Consideraciones y metodología para el análisis de compatibilidad fármaco- excipiente mediante cromatografía en capa fina.

#### 3.2.1 Tipos de cromatografía disponibles para TLC

Dada la creciente cantidad de sustancias que se requiere analizar, se han desarrollado de manera paulatina, varias metodologías para analizar muestras mediante cromatografía, todas ellas están desarrolladas en función de las propiedades de los materiales que se desean separar. Aún así, existen dos tipos básicos de cromatografía, la de fase “normal” y la de fase “reversa”; la primera se caracteriza por utilizar una fase estacionaria (FE) polar y una fase móvil (FM) no polar, mientras que en la segunda se invierte el orden.

Existen tres mecanismos básicos de separación en cromatografía (Wall, 2005).

Cuadro 3.2 Mecanismos de separación en cromatografía

Mecanismo	Características
<p>Absorción</p>  <p>Analito</p> <p>Silica Gel</p>	<p>La absorción es un fenómeno de superficie. En el caso de una FE de sílica gel, la muestra interactúa con los grupos silanol de la superficie. Interacciones del tipo dipolo inducido ocurren dependiendo de la naturaleza de los analitos. Las sustancias que son débilmente adsorbidas son acarreadas por la FM hacia el frente, mientras que aquellas que interactúan fuertemente con la FE, son retenidas más cerca del punto de aplicación. Así la separación depende de la fuerza de las interacciones dipolo-inducido ejercidas entre la FE y los analitos.</p>
Partición	<p>Una fase estacionaria líquida, insoluble en la fase móvil, es adsorbida o químicamente unida a un FE de sílica gel, que funciona como soporte. La migración de los analitos depende de su mayor afinidad a la fase móvil o las fases estacionarias. Así, un analito con gran afinidad por la FM eluirá más rápido que una que tenga una mayor afinidad por la FE.</p>
Intercambio iónico	<p>Este proceso depende de la capacidad de los iones contenidos en la FE para intercambiar iones de carga similar contenidos en la muestra o en la FM. El intercambio de iones depende de la afinidad de la FE por varias especies iónicas. La fase móvil actúa como una disolución electrolítica. La capacidad de migración de los componentes en la muestra es dependiente del pH, por lo que cuando este es constante, los analitos con baja capacidad para el intercambio iónico migrarán más que aquellos que tienen una alta capacidad.</p>

### 3.2.2 La fase estacionaria

Hay disponibles al menos 25 tipos de materiales que pueden ser utilizados como FE en TLC. Esta claro que para conseguir una separación óptima es importante seleccionar la FE correcta. Algunos soportes tienen un rango específico de aplicación, por ejemplo, la silica gel impregnada con cafeína es utilizada en separaciones de hidrocarburos poliaromáticos; mientras que otros, tales como la silica gel y el óxido de aluminio, son útiles en un amplio rango de aplicaciones. Antes de seleccionar una FE, es necesario considerar los compuestos que se deben separar. Características tales como la polaridad, solubilidad, ionización, peso molecular, tamaño y forma, son muy importantes al seleccionar el mecanismo de separación. Lo reportado por los proveedores, la bibliografía y las revistas de investigación, es de gran utilidad para la selección de la FE. (Wall, 2005).

*Cuadro 3.3 Aplicaciones de las fases estacionarias más comunes.*

<i>Fase estacionaria</i>	<i>Compuestos que se pueden separar</i>
Silica gel	Toda clase de compuestos.
Óxido de aluminio	Compuestos básicos (alcaloides, aminos, etc.) esteroides, terpenos, hidrocarburos aromáticos y alifáticos.
Celulosa	Amino ácidos y sus derivados, carbohidratos, colorantes alimenticios.
Kieselguhr	Carbohidratos, aflatoxinas, herbicidas, tetraciclinas.
Poliamida	Fenoles, flavonoides, compuestos que contienen nitrógeno.
Silica gel – aminos	Particularmente útil para la separación de carbohidratos, ácidos sulfónicos, fenoles, ácidos carboxílicos, nucleótidos.
Silica gel – grupos ciano	Muchas clases de compuestos, en particular pesticidas, esteroides y conservadores.
Silica gel – dioles	Particularmente útil en la separación de hormonas y esteroides.
Fase reversa, silica gel (RP 2, RP 8, RP 18)	Mejora la separación de varios tipos de compuestos, esteroides, tetraciclinas, ftalatos, antioxidantes, lípidos, barbituratos, aminofenoles y ácidos grasos.

<i>Fase estacionaria</i>	<i>Compuestos que se pueden separar</i>
Silica gel (CHIR) quirál modificada	Enantiómeros de aminoácidos, halógenos, N-alquil, y $\alpha$ – metil aminoácidos, péptidos simples y ácidos hidroxicarboxílicos (catecolaminas).
Silica gel impregnada con nitrato de plata	Lípidos, incluyendo variaciones en insaturaciones e isómeros geométricos.
Silica gel impregnada con cafeína	Particularmente selectiva para hidrocarburos poliaromáticos.
Silica gel impregnada con ácido bórico/fosfatos.	Particularmente selectiva para carbohidratos.

### 3.2.3 *La Fase Móvil*

/

#### a) *Consideraciones generales*

La selectividad de una separación se ve mayoritariamente influenciada por la selección de la FM. Una buena selección de la FM puede ser la diferencia entre un obtener o no, un cromatograma que nos proporcione la información que necesitamos. La regla general es: en fase normal, una FM no polar afectará la migración de sustancias de baja polaridad, mientras que las muestras más polares necesitarán FM más polares. Hay que tomar en cuenta que tanto la FM como los analitos compiten por los sitios de adsorción de la fase estacionaria.

Por simplicidad, cuando se elige una FM, se recomienda utilizar un solo disolvente para evitar problemas como la interacción química, separación de fases o la evaporación de alguno de los componentes antes de que termine el proceso de elusión (Sherma, 2003). Las características principales de los disolventes a utilizar en una FM son:

- Deben ser de alta pureza y estar libres de humedad.
- Deben ser inertes, (No deben interactuar químicamente con la FE, la muestra o entre ellos).
- Deben “mojar” la FE.

- No deben evaporarse rápidamente.
- Económicos y de fácil disponibilidad.

Anteriormente la selección de la FM se llevaba a cabo mediante experimentos de prueba y error guiados por la experiencia del analista. Cuando se utilizaba sílica gel 60 como FE, un disolvente de baja polaridad era seleccionado, (por ejemplo hexano, benceno, tolueno, ciclohexano o diclorometano). Si se observaba que la muestra no migraba o migraba poco, se adicionaban de manera progresiva disolventes o mezclas de disolventes de mayor polaridad, hasta que se obtenían separaciones con buena resolución. Con separaciones de fase reversa se comenzaba a trabajar con disolventes polares, acetonitrilo o mezclas metanol/agua. (Bernard, 1999)

#### *b) Series Eluotropicas*

Con el objetivo de facilitar la selección de la FM, se ha tratado de clasificar los disolventes o las mezclas de disolventes por su poder de elusión; parámetros tales como la solubilidad en agua y la constante dieléctrica no son suficientes para predecir adecuadamente este comportamiento. Muchos modelos se han propuesto para predecir el poder de elusión, pero el más aceptado en la actualidad es el de Snyder, que establece que el poder de elusión no depende únicamente de las propiedades fisicoquímicas del disolvente, si no que también depende de las cualidades de adsorción de la FE. El parámetro propuesto por Snyder se denomina " $\epsilon^0$ " y se define como la energía de absorción por unidad estándar de disolvente, para una combinación disolvente/adsorbente (FE) determinada.

Los valores de  $\epsilon^0$  pueden ser calculados para un amplio rango de disolventes utilizados en TLC, y una tabla puede ser construida a partir de los valores de  $\epsilon^0$  de varios disolventes. Esta tabla recibe el nombre de "*series eluotropicas*".

Si la resolución es pobre o no se logra la separación de los componentes de la mezcla con un solo disolvente, se pueden preparar mezclas. Esto expande el número de FM que se pueden preparar, permitiendo la obtención de valores "intermedios" de  $\epsilon^0$  que se pueden manejar. Cuando se desee optimizar una FM,

se deben realizar ajustes con otros disolventes para mejorar la resolución, tomando siempre en cuenta que el valor de  $\epsilon^0$  debe mantenerse. (Snyder, 1982)  
Una forma de mantener este valor es apoyarse mediante el uso de la siguiente ecuación:

$$\epsilon_{ab} = \epsilon_b + \frac{\text{Log } N_b}{\alpha n_b}$$

Donde:

$\epsilon_{ab}$  Es el valor intermedio de  $\epsilon^0$

$\epsilon_b$  Es el valor de  $\epsilon^0$  para el disolvente B

$n_b$  Es el área molecular adsorbida del disolvente B

$\alpha$  Es la actividad superficial del adsorbente (Para silica gel al 40% de RH,  $\alpha = 0.69$ )

$N_b$  Es la fracción mol de B presente en la FM

*Cuadro 3.4. Series Eluotropicas para los disolvente más comúnmente utilizados en TLC (fase normal), utilizando como FE óxido de aluminio y silica gel. Basado en el parámetro  $\epsilon^0$  establecido por Snyder.*

Disolvente	Valor de $\epsilon^0$ en Alúmina (Experimental)	Valor de $\epsilon^0$ en Silica Gel	
		(Experimental)	(Teórico)
<i>n</i> -Pentano	0.00	0.00	0.00
<i>n</i> -Hexano	0.01		0.01
<i>Iso</i> -Octano	0.01		0.01
Ciclohexano	0.04		0.03
Ciclopentano	0.05		0.04
Tetracloruro de carbono	0.18	0.11	0.14
<i>Iso</i> -Propil eter	0.28		0.22
Tolueno	0.29		0.22
Clorobenceno	0.30		0.23

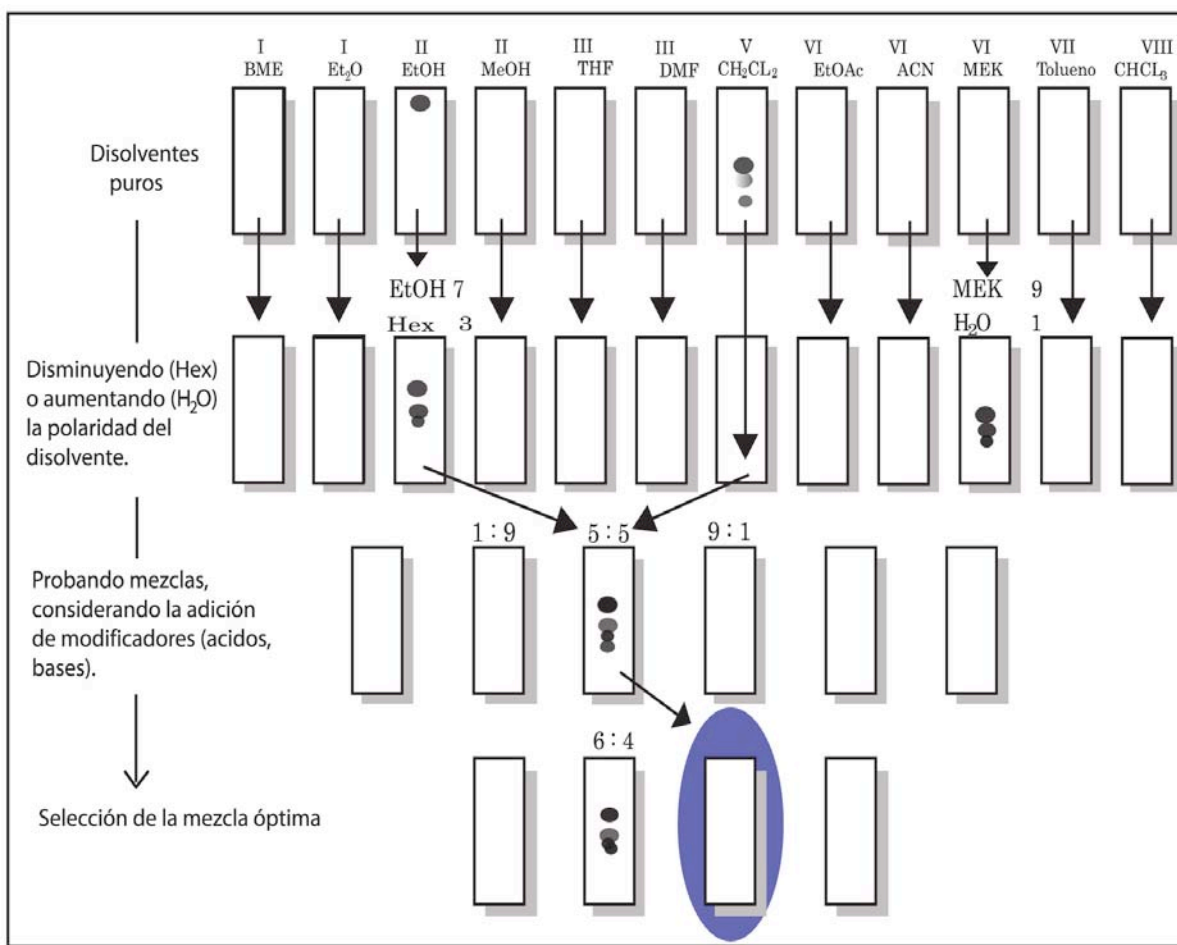


Benceno	0.32	0.25	0.25
Cloroformo	0.40	0.26	0.31
Diclorometano	0.42	0.32	0.32
Metil <i>iso</i> -butil cetona	0.43		0.33
Tetrahidrofurano	0.45		0.35
Dietil eter	0.46	0.38	0.38
1,2-Dicloroetano	0.49		0.38
Acetona	0.56	0.47	0.43
1,4-Dioxano	0.56	0.49	0.43
Acetato de etilo	0.58	0.38	0.45
Acetato de metilo	0.60		0.46
Alcohol amílico	0.61		0.47
Anilina	0.62		0.48
Acetonitrilo	0.65	0.50	0.50
Piridina	0.71		0.55
2-Butoxietanol	0.74		0.57
Propan-1-ol	0.82		0.63
Propan-2-ol	0.82		0.63
Etanol	0.88		0.68
Metanol	0.95		0.73
Etanendiol	1.11		0.85
Ácido acético	<1		<1
Agua	>>1		>>1

### b) Selección de la fase móvil

Las características fisicoquímicas de la muestra determinan la FM a utilizar. Muestras de carácter no polar requieren de FM de baja polaridad y progresivamente se necesitarán FM de mayor polaridad cuando los analitos tengan una mayor cantidad de grupos funcionales. Una forma práctica y sencilla de proporcionar una mayor selectividad a las FM, es mediante la adición de pequeñas cantidades de ácidos o bases, tomando en consideración los pka de los analitos (si se conocen), pues de esta manera se puede modificar la polaridad de las moléculas a analizar, (Al modificar el pH, se modifica el grado de ionización de la molécula y con esto su polaridad).

Figura 3.1 Selección y optimización de la fase móvil



El esquema representa las etapas básicas para la selección de una FM. BME: Butilmetil eter, THF: Tetrahidrofurano, DMF: Dimetilformamida, DCM: Diclorometano, EtOAc: Etil acetato, ACN: Acetonitrilo, MEK: Butanona.

Para optimizar la selección de la FM, se han propuesto varias metodologías, la más sencilla es el triángulo de selectividad.

*b.i.) Triángulo de Selectividad*

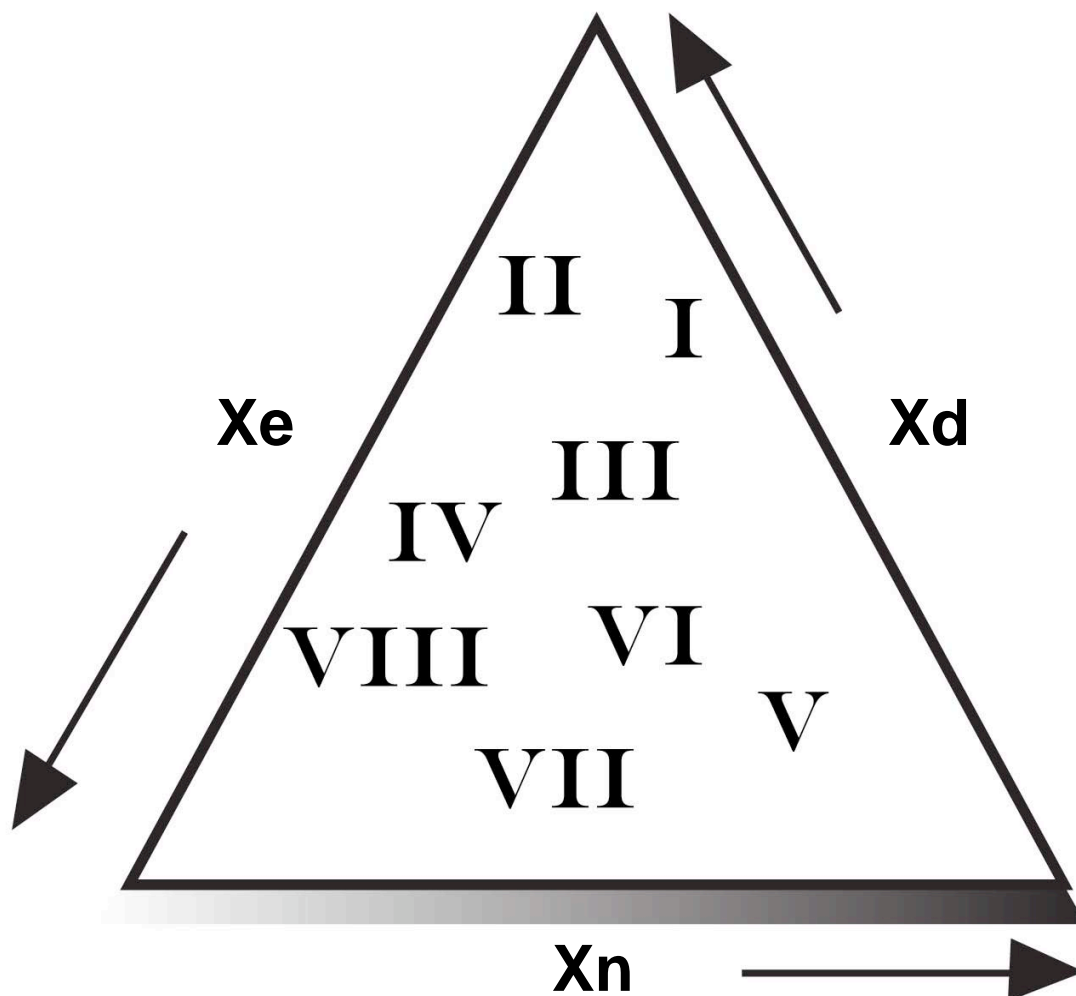
Este triángulo fue propuesto por Snyder. Los disolventes a utilizar se clasifican en 8 grupos de acuerdo a sus propiedades como aceptores de protones (Xe), donadores de protones (Xd) o su capacidad de interactuar mediante la formación de dipolos (Xn).

*Cuadro 3.5 Selectividad de los disolventes de acuerdo a Snyder y Glajch*

<i>Grupo</i>	<i>Disolventes</i>
<b>I</b>	Éteres alifáticos
<b>II</b>	Alcoholes alifáticos
<b>II</b>	Piridina, tetrahidrofurano, glicol éteres, amidas (excepto formamida).
<b>IV</b>	Formamida, ácido acético, glicoles.
<b>V</b>	Diclorometano, 1,2-dicloroetano.
<b>VI</b>	Cetonas alifáticas y esteres, 1,4-dioxano, acetonitrilo.
<b>VII</b>	Hidrocarburos aromáticos y éteres, compuestos
<b>VII</b>	Cloroformo, agua, nitrometano, m-cresol.

Posteriormente los 8 grupos se acomodan dentro de un triángulo, donde cada esquina representa una característica (Xd, Xe, Xn).

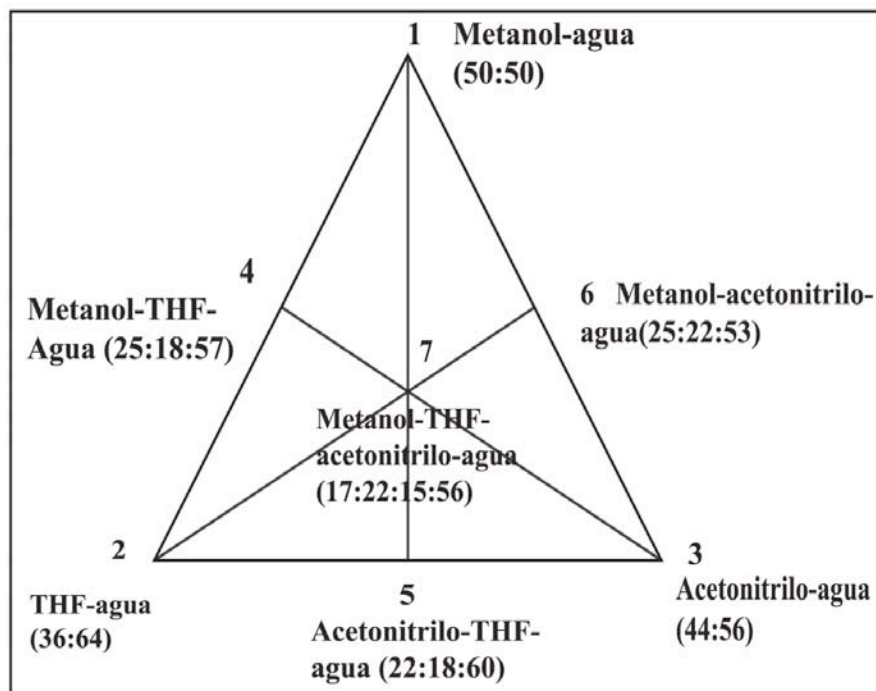
Figura 3.2 Triángulo de Selectividad de acuerdo a Snyder.



Un triángulo más selectivo puede construirse utilizando tres disolventes de grupos separados, que se encuentren cercanos a los ápices del triángulo original. En el caso de separaciones en fase normal, un ejemplo podría ser dietil eter, cloroformo y diclorometano.

El n-hexano se adiciona como disolvente no polar, para ajustar la polaridad de la FM. Para una separación en fase reversa, el acetonitrilo, el metanol y el tetrahidrofurano mezclados con agua forman las esquinas del triángulo.

Figura 3.3 Triángulo de selectividad para la optimización de la FM en separaciones de fase reversa.



Como se muestra en la figura 14, se obtienen 3 mezclas en el centro de cada cara del triángulo y una cuarta justo al centro del mismo. Todas estas mezclas se prueban y se seleccionan las dos que proporcionen los mejores resultados, pudiendo ser adaptadas si se requiere una mayor resolución. Esta metodología es más rápida y requiere menos recursos que la tradicional. (Snyder, 1982).

### 3.2.4 Preparación y aplicación de la muestra

#### a) Preparación de la muestras

La adecuada preparación y aplicación de la muestra es fundamental para obtener una buena separación cromatográfica. Los problemas más comunes en TLC, como son el coleo y la obtención de bandas de forma, tamaño e intensidad irregulares, se deben, en muchos casos, a errores en este paso. Algunos de los equipos utilizados comúnmente para la aplicación de la muestra, como son pipetas y tubos capilares, pueden ocasionar daños en la superficie de la placa que generan cromatogramas de mala calidad. La temperatura, la humedad ambiental, las partículas suspendidas y los vapores de sustancias químicas presentes en el

medio, también son capaces de alterar el equilibrio fase estacionaria - fase móvil durante el desarrollo de la cromatografía. (Sherman, 2003).

Las muestras para TLC deben ser disueltas antes de su aplicación. La selección del disolvente de la muestra debe ser cuidadosa, la regla más importante a considerar es que: *“El disolvente más adecuado es aquel en el que el analito es completamente soluble”*; otras consideraciones importantes son:

- Bajo costo y alta disponibilidad.
- Alta pureza y estabilidad.
- No debe interaccionar químicamente con el analito o la fase móvil.
- El líquido debe ser lo suficientemente volátil como para no hacer muy prolongado el tiempo de secado, pero tampoco debe evaporarse antes de que se haya colocado la muestra sobre la placa.
- Evitar los disolventes que no sean capaces de mojar la fase móvil
- Para TLC de fase normal, el disolvente debe ser poco polar, mientras que para TLC de fase reversa debe ser polar.
- 

*Fig. 3.4 Polaridad del disolvente utilizado para colocar la muestra y tamaño de mancha en TLC de fase normal*



Mezcla de lípidos disueltos en (a) acetona, (b) diclorometano y (c) hexano. Se utilizo 1µL de muestra y se desarrollo en una placa de silica gel 60. Con el disolvente menos polar, la muestra se adsorbe inmediatamente en la superficie porosa de la placa, generando una mancha compacta, y permitiendo que el disolvente difunda libremente. En caso contrario, cuando el disolvente es mas polar, la muestra es acarreada por este y difunde con el, dejando una mancha más grande.

Es importante permitir que todo el disolvente se evapore antes de correr la placa de TLC, de lo contrario pueden obtenerse resultados erróneos; Existen muchos disolventes que requieren de tiempos de evaporación mayores a los que se pueden detectar de forma visual; entre ellos se encuentran el acetato de etilo, la acetona y algunos alcoholes. En estos casos, para obtener resultados reproducibles, se sugiere estandarizar las condiciones de secado, las cuales deben ser suaves para evitar la degradación de productos que sugieran la incompatibilidad de la muestra.

Aunque regularmente es necesario hacer ensayos previos para determinar la cantidad óptima de muestra a aplicar, el volumen a utilizar debe ser de entre 1 a 10µL; la concentración de la muestra debe ser suficiente para garantizar su detección por el método elegido, la sensibilidad de la mayoría de los métodos se encuentra en un rango de 0.1-1µg). Si la muestra se encuentra demasiado concentrada el material no se adsorberá en la fase estacionaria, causando que se observe “coleo” (zonas de arrastre) en las manchas, lo que dificultará la detección de productos de degradación.

Como las muestras a analizar se encuentran en cantidad suficiente y se desea detectar productos de degradación, no es necesario recurrir a procesos de extracción o purificación. (Wall, 2005).

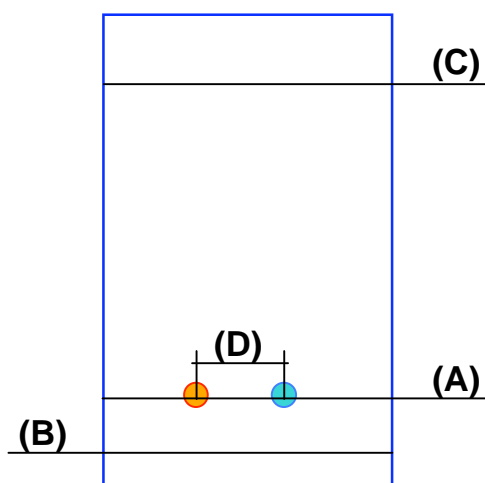
#### *b) Preparación de la placa*

Durante el manejo de la placa es recomendable utilizar guantes de plástico con la finalidad de evitar la contaminación de la superficie activa. Si las placas no han

sido manejadas adecuadamente, se sugiere lavarlas utilizando la fase móvil o una mezcla de cloroformo-metanol (1:1).

Las placas que han sido expuestas a la humedad por largos periodos deben ser secadas en horno a una temperatura de entre 70° C y 110° C durante 30 minutos para activarlas. (Sherma, 2003)

Figura 3.5 Placa de cromatografía en capa fina



Este es un esquema que indica la forma en que se deben colocar y desarrollar las muestras en la TLC. **(A)** Corresponde a la línea de origen, sobre ella se colocan las muestras y debe estar a una distancia de entre 1.5 y 2.5 cm de la base de la placa. **(B)** Es la altura a la que debe llegar la fase móvil al inicio de la cromatografía, esta debe ser de aproximadamente 1.0 cm y no puede sobrepasar a la línea de origen. **(C)** Se denomina frente de elución, es el punto hasta el que migra la fase móvil, al menos 10.0 cm. Finalmente, **(D)** es el espacio que se requiere dejar entre dos muestras, aproximadamente 1.0 cm. Las distancias deben ajustarse al tamaño de placa que se utilice

### c) Aplicación de la muestra

La aplicación de la muestra es un paso crítico para obtener resultados con buena resolución.

La muestra debe ser completamente transferida desde el aplicador y debe formar manchas compactas de entre 3mm y 6mm de diámetro, así al correr la muestra se obtendrán manchas fáciles de identificar y sin "coleo". A pesar de que la aplicación de volúmenes grandes en una pequeña zona puede aumentar significativamente la resolución, la aplicación de volúmenes grandes en manchas extensas proporciona resultados difusos.

El tamaño de la mancha puede reducirse aplicando la muestra poco a poco en volúmenes pequeños, las aplicaciones posteriores deben realizarse sobre la primera permitiendo siempre que el disolvente se evapore entre aplicaciones. Otro



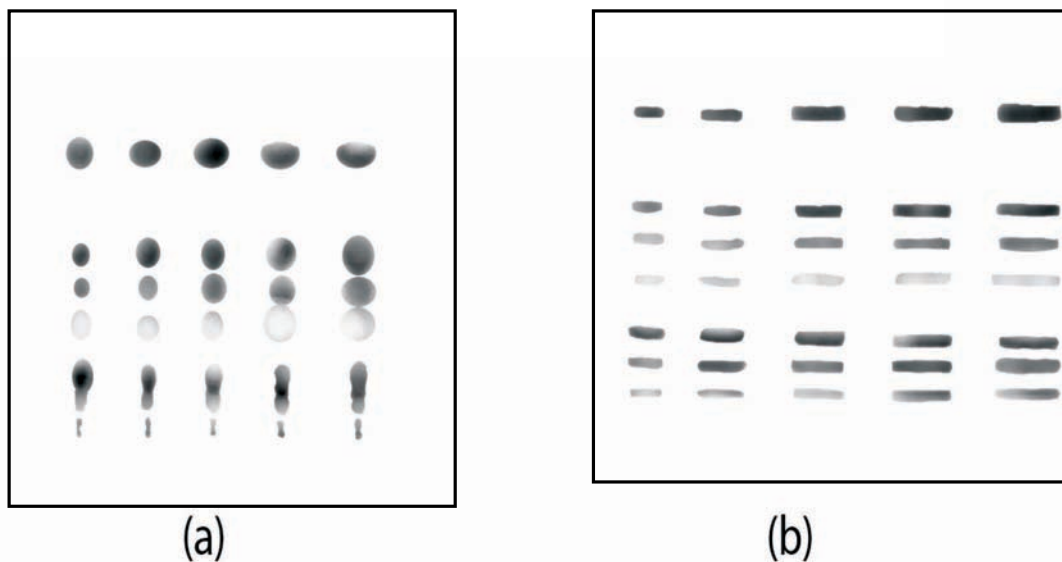
punto importante es considerar que debe dejarse al menos una distancia de 1cm a 2cm entre cada muestra aplicada sobre la línea de origen de la placa.

Las muestras también pueden ser aplicadas en forma de bandas o de manchas circulares, las bandas permiten obtener resultados de mejor resolución, mientras que con las manchas se pueden colocar una mayor cantidad de muestras.

*Cuadro 3.6 Ventajas de los métodos más comunes para la aplicación de muestras en TLC*

<b>Bandas</b>	<b>Manchas</b>
Resultados con alta resolución	Requiere poca automatización
Fácil de automatizar	Económico
Mejor distribución de las muestras	Aplicación rápida

*Figura 3.6 Comparación de la resolución conseguida mediante la aplicación de bandas y de manchas*



Se puede observar que la aplicación de bandas proporciona resultados con mejor resolución. (Kaiser, 1977).

Debido a que el análisis de compatibilidad tiene carácter cualitativo, pueden utilizarse como aplicadores pipetas Pasteur o tubos capilares, siendo necesario manejarlos de manera cuidadosa para evitar dañar la superficie de la placa; pues cuando la fase móvil llega a perforarse, puede observarse que la muestra se concentra en forma de anillo alrededor de la perforación, evitando que esta migre adecuadamente cuando se adiciona la fase móvil.

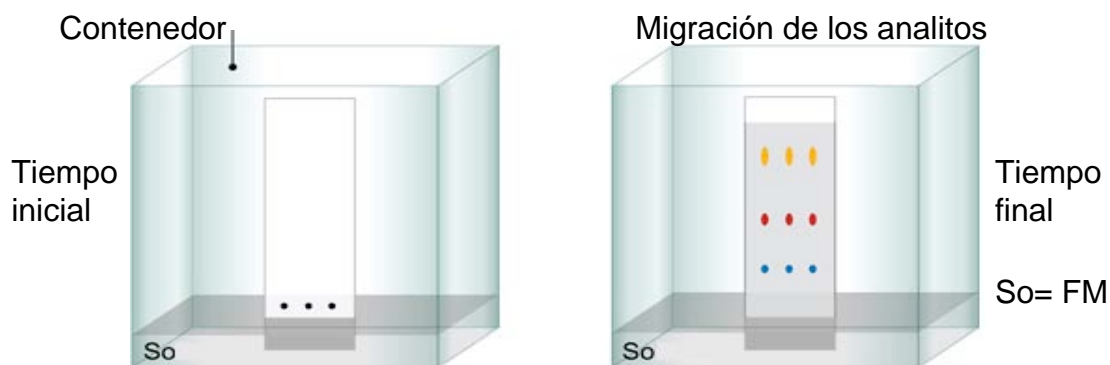
En los casos en los que se requiera aumentar la precisión del procedimiento es recomendable utilizar micropipetas.

### 3.2.5 Desarrollo de la TLC

También conocido como elusión o corrida; el desarrollo de la cromatografía es la fase en la que la placa se coloca en contacto con la fase móvil para su elusión.

Existen muchos tipos de cámaras que están adaptadas a diferentes tamaños y cantidades de placas, regularmente están construidas de vidrio y se encuentran herméticamente cerradas, para permitir que el espacio se sature con el vapor de la FM a utilizar. (Touchstone, 1992)

Figura 3.7 Desarrollo de la TLC



El proceso de desarrollo más comúnmente utilizado en la TLC, consiste en poner en contacto la FM y la FE en una sola ocasión y en una posición definida, sin embargo, existen otras alternativas, denominadas técnicas de desarrollo múltiple, que aunque resultan poco comunes, son muy útiles en casos especiales, pues son

capaces de mejorar la resolución y aumentar la capacidad de la TLC muchas veces. (Wall, 2005).

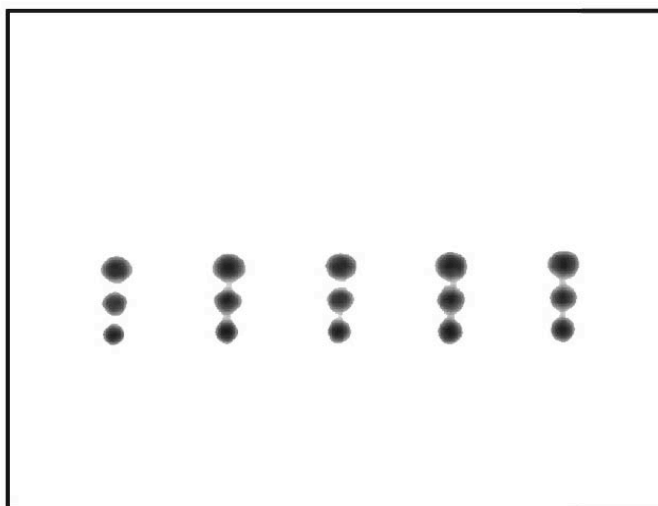
*Cuadro 3.7 Técnicas de desarrollo múltiple de TLC*

Técnica	Características
Fase móvil única, múltiple desarrollo	Se utiliza una sola FM, se desarrolla la cromatoplaaca una vez, se seca y se vuelve a introducir en la cámara, permitiendo que la FM llegue al frente de elusión alcanzado inicialmente. El proceso se repite hasta que los componentes de la muestra hayan migrado lo suficiente para ser analizados. Esta técnica puede ser una solución en el caso de que se obtengan cromatoplaacas con pobre resolución.
Desarrollo en dos dimensiones	Es la única técnica en la que se puede desarrollar la cromatografía en dos dimensiones. Permite mejorar la resolución. Se eligen dos FM de similar poder de elusión. Consiste en desarrollar la cromatoplaaca, poniéndola en contacto en posición horizontal con la primera fase móvil, secarla y desarrollarla colocándola en posición vertical. Es necesario desarrollar los estándares en otra placa.

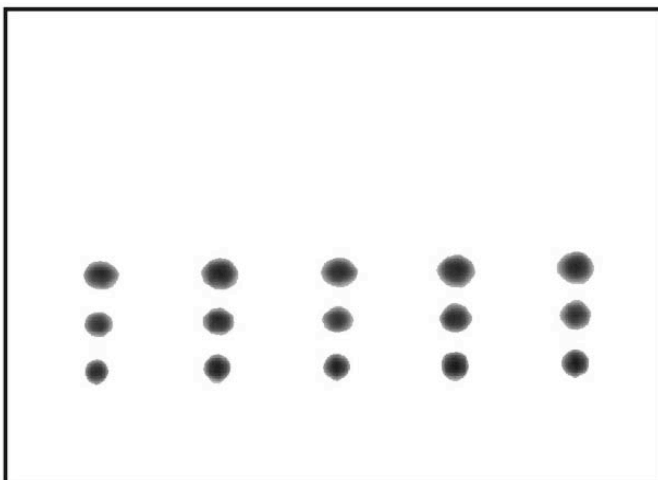
Figura 3.8 Aumento en la resolución de analitos mediante desarrollos múltiples



Separación de Antioxidantes,  
Metil, Etil y Propil Parabenos.  
Placa: Merck Sillita 60 CN  
F254  
UV 254nm  
Primer Desarrollo.



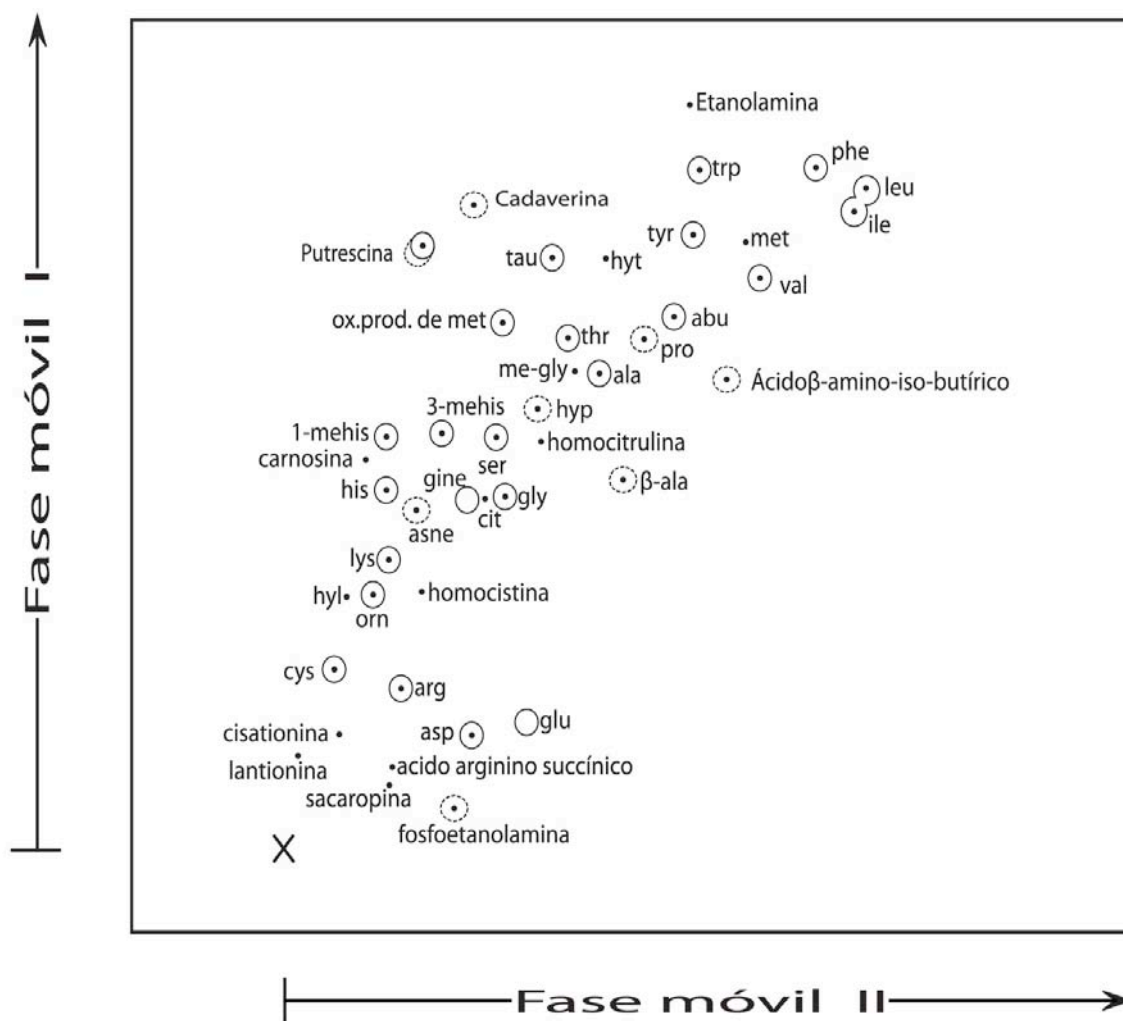
Separación de Antioxidantes,  
Metil, Etil y Propil Parabenos.  
Placa: Merck Sillita 60 CN  
F254  
UV 254nm  
Segundo Desarrollo.



Separación de Antioxidantes,  
Metil, Etil y Propil Parabenos.  
Placa: Merck Sillita 60 CN  
F254  
UV 254nm  
Tercer Desarrollo.

FE: Silica gel CN F<sub>254s</sub>, FM: etanol/agua (20:80 v/v), Detección: Fluorescencia UV a 254nm, Manchas: propil parabeno, etil parabeno y metil parabeno (en orden ascendente). (Wall, 2005).

Figura 3.9 Desarrollo en dos dimensiones



Separación bidimensional de aminoácidos presentes en la orina (Wall, 2005).

### 3.2.6 Detección y Visualización

Tras el desarrollo de la muestra, la placa es removida de la cámara y se deja secar a temperatura ambiente, con aire frío o ligeramente caliente, para evitar que los productos de degradación puedan verse afectados por temperaturas demasiado altas.

Las manchas resultantes pueden ser detectadas mediante varios métodos. Existen compuestos que absorben luz UV o exhiben fluorescencia cuando son expuestos a la luz visible o UV. Debido a la naturaleza inerte de la FE, pueden llevarse a cabo una gran variedad de reacciones químicas sobre de ella sin alterarla. Aún los métodos más agresivos, como pueden ser el uso de soluciones

de ácido clorhídrico o sulfúrico, son usualmente bien toleradas por las placas. (Jork, 1994).

La lista de reactivos disponibles para la detección de analitos en TLC es larga, lo cual es un reflejo de la versatilidad de las técnicas de detección.

Los reactivos se pueden agrupar en varias categorías en función de su modo de acción. (Sherma, 2003).

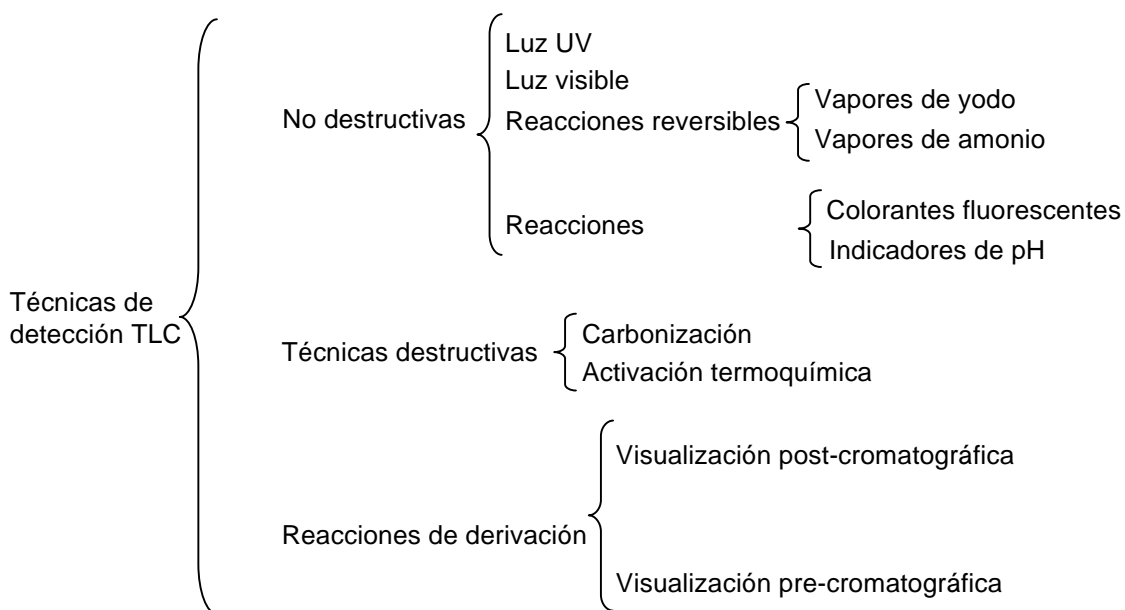
Los reactivos conocidos como “universales” tienen la capacidad de detectar una amplia gama de compuestos con diferentes estructuras moleculares. Incluidas en este grupo, están las soluciones y vapores ácidos, los vapores de amonio, la fluoresceína, la diclorofluoresceína y el yodo. Hay otro tipo de reactivos que pueden ser utilizados en técnicas que se conocen como destructivas, estas causan la destrucción de las moléculas de interés, dejando atrás un depósito visible en la FE. Por otro lado existen también técnicas no destructivas que permiten detectar a los analitos, sin que estos se vean químicamente modificados.

Incluidas en las técnicas no destructivas se encuentran, la luz visible y UV, el yodo y los vapores de amonio. Los últimos dos compuestos se incluyen en esta categoría, porque en ocasiones la reacción es reversible. Otros reactivos son específicos para un grupo funcional determinado y pueden ser utilizados para detectar ciertas clases de compuestos, tales como, alcoholes, aminas, aldehídos, cetonas, esterres o ácidos. Este es el máximo grado de selectividad que puede alcanzarse, pues en la práctica no existen reactivos completamente específicos para una molécula en particular. (Wall, 2005).

*Figura 3.10 Equipo comercial para revelado de placas,*



Figura 3.11 Clasificación de las metodologías más comunes para el revelado de placas de TLC



Cuadro 3.8 Métodos para la detección de compuestos en cromatografía de capa fina.

Específicos		Inespecíficos
Revelador	Grupo funcional	Inspección bajo lámparas UV Calentamiento Agentes fluorogénicos y cromogénicos <ul style="list-style-type: none"> <li>• Yodo</li> <li>• Ácido fosfomolibdico</li> <li>• Rodamina</li> <li>• SbCl<sub>3</sub> SbCl<sub>5</sub></li> <li>• Anisaldehído – ácido sulfúrico</li> <li>• Fluoresceína</li> <li>• Indicadores de pH</li> </ul>
Dinitrofenilhidrazina	Aldehídos y cetonas	
R. de Dragendorff	Alcaloides	
Iodoplatinato	Alcaloides	
Hidroxilamina-nitrato férrico	Amidas	
Difenilcarbazona	Barbitúricos	
Verde de bromocresol		
Dicloroquinona	Antioxidantes	
Cloruro férrico	Aminas aromáticas	
Glicolípidos	Ácido tricloroacético	

Una guía más completa de reveladores y metodologías para revelar sustancias con grupos funcionales específicos se presenta en el anexo C. (Sherma, 2003)

### 3.2.7 Evaluación cualitativa y documentación

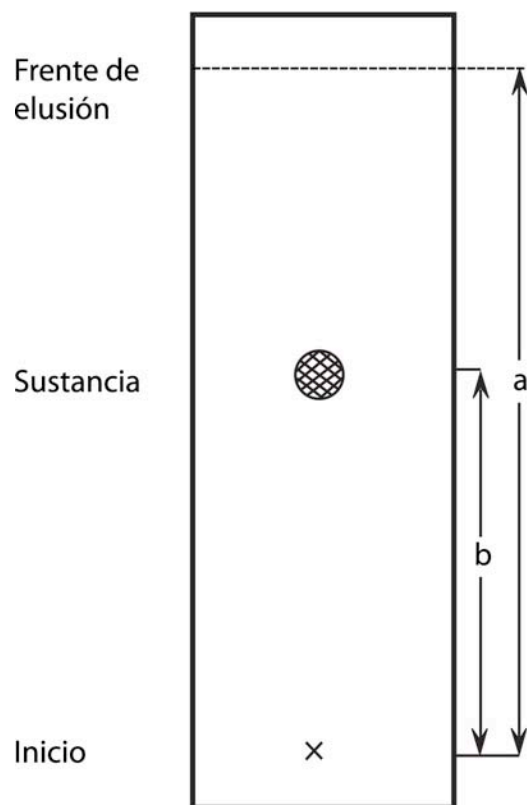
#### a) Evaluación

Las posiciones en las que se localizan las muestras tras la elusión de una placa, son descritas a través del valor denominado  $R_f$  (Sherman, 2003).

$$Rf_a = \frac{\text{Distancia recorrida por } a}{\text{Distancia del frente de elusión}}$$

Las distancias se miden a partir de la línea de origen, (Wall, 2005).

Figura 3.12 Esquema para el cálculo del  $R_f$



$$R_f = \frac{b}{a}$$

La distancia que migra un analito, debe tomarse como el centro de la mancha.



En muchas ocasiones, el Rf no es una medida precisa para caracterizar un compuesto, pues este puede variar ligeramente debido a las condiciones ambientales, las características de la FE (humedad, calidad, grosor), la distancia del frente y variaciones mínimas en la preparación de la FM, por lo que es indispensable que junto con la muestra, se corran estándares del fármaco y del excipiente a analizar, para así poder identificarlos y evitar confundirlo con los posibles productos de interacción.

La TLC puede aportar mucha información crítica para la identificación de un compuesto, el color obtenido mediante las reacciones de identificación, el comportamiento de la mancha frente a la luz UV, etc. La versatilidad de la TLC, permite en ocasiones que las placas sean reveladas por más de una sola técnica. (Touchstone, 1992).

*a) Documentación*

Muchas veces resulta complicado describir los colores o la apariencia de las manchas obtenidas en la TLC. El contorno de las manchas puede ser delineado con un lápiz suave para evitar daños en las placas; éstas también pueden ser preservadas en bolsas de plástico. Las placas comerciales son por lo regular pequeñas y fáciles de almacenar. El problema radica en que muchos de las reacciones de detección exhiben sus coloraciones por cortos periodos de tiempo.

Probablemente la mejor solución radica en fotografiar las placas, las fotografías pueden ser fácilmente anexadas a los reportes, además de que son copia fiel de los colores y las formas de las manchas obtenidas en la cromatoplaca.

Hay disponibles diversos equipos comerciales adaptados para tomar fotografías de las placas, lo más importante de estos equipos es que cuentan con iluminación y un software especial que les permite hacer más nítidas las imágenes. (Vovk, 1998).

Figura 3.13. Equipo comercial para fotografías placas de TLC



# CAPÍTULO IV

## Estudio de caso: Ibuprofeno

### 4.1 Justificación

Como se menciona en el capítulo I, antes de iniciar con la formulación de un nuevo medicamento, es necesario caracterizarlo para definir cuales son los excipientes, procesos y materiales de empaque necesarios, para mantener sus propiedades durante los procesos de fabricación y distribución.

Los artículos de divulgación científica resultan muy útiles debido a que proporcionan información actualizada acerca de excipientes, equipos y procesos para la fabricación de medicamentos. Algunas de las revistas más importantes en el ramo farmacéutico son:

- European Journal of Pharmaceutical Sciences
- International Journal of Pharmaceutics
- Journal of Controlled Release
- Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis
- Pharmaceutical Science & Technology Today
- Pharmaceutical Technology

Otra fuente de información importante, lo constituyen los *“Handbook of Pharmaceutical Excipients”*, en ellos se puede encontrar información acerca de las características y propiedades de los excipientes de uso común.

### 4.2 El Ibuprofeno

Se seleccionó al ibuprofeno tabletas de 400mg, con la finalidad de ejemplificar la metodología para realizar los ensayos de compatibilidad. La razón de esta selección es que el ibuprofeno es un fármaco bien caracterizado, por lo que es sencillo encontrar en la literatura la información necesaria para proponer los ensayos de compatibilidad fármaco-excipiente para su preformulación.



Actualmente se comercializan en México 5 formas farmacéuticas que contienen ibuprofeno de forma individual. La tabla 4.1 las enlista, considerando también la forma farmacéutica, la dosis y el laboratorio fabricante. (PLM, 2007)

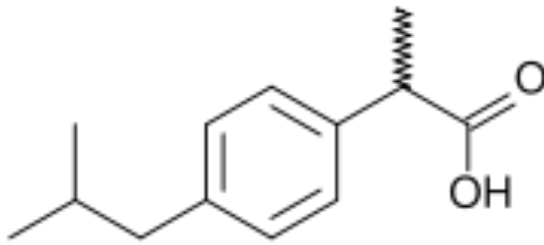
*Tabla 4.1 Presentaciones más comunes de Ibuprofeno expandidas en México*

Nombre comercial	Presentación	Laboratorio
Advil	Suspensión 20mg/mL	Wyeth CHC
Advil	Grageas 200mg	Wyeth
Ainex	Tabletas 400, 600 y 800mg	Novartis Sandoz
Days	Tabletas 200mg	Merck
Dipridol	Tabletas 400 y 800mg	Química Son's
Dolprin	Grageas 200mg	Collins
Eufenil Forte	Cápsulas 400mg	Gel Caps
Febratic	Suspensión 20mg/MI	Siegfried Rhein
Flexafen	Tabletas 400mg	DIBA
Ibuflam	Tabletas 400mg	3M
Maxifen	Tabletas 400mg	UNIPHARM
Motrin	Tabletas 400, 600 y 800mg	Pfizer
Quadrax	Tabletas 200mg	Promeco
Tabalon	Tabletas 400mg	Sanofi-Aventis
Termo-Rub DR.	Gel 50mg/g	Mentholatum



#### 4.2.1 Caracterización del Ibuprofeno

##### a) NOMENCLATURA



**IBUPROFENO**

*Nombre IUPAC:*

Ácido 2-(p-isobutilfenil)propiónico

*Fórmula empírica:*

$C_{13}H_{18}O_2$

*Número CAS:* 15687-27-1

*Apariencia:* Polvo blanco o cristales.

##### b) USOS Y APLICACIONES

El ibuprofeno fue introducido al mercado al final de la década de los 60's, como un antiinflamatorio no esteroideo, para el tratamiento de un amplio rango de padecimientos, incluidos, dolor, inflamación, artritis, fiebre y dismenorrea. La dosis usual es de 600-1800mg/día, aunque estudios clínicos han demostrado que es relativamente seguro a dosis superiores a 2400mg/día.

Se ha establecido que el enantiómero S-(+) es casi completamente el responsable del efecto antiinflamatorio. El mecanismo de acción consiste en el bloqueo de la síntesis de prostaglandinas, vía inhibición de la ciclo-oxigenasa (COX). La COX posee dos isoformas, la primera relacionada la secreción de agentes protectores para el tracto gastrointestinal, de aquí se deriva uno de los efectos adversos del ibuprofeno, la úlcera gástrica. La segunda isoforma es una enzima inducible, que se expresa en macrófagos y otras células que regulan el sistema inmune, después de que el organismo sufre algún tipo de trauma. (Goodman y Gilman, 2003)

##### c) MÉTODO DE PREPARACIÓN

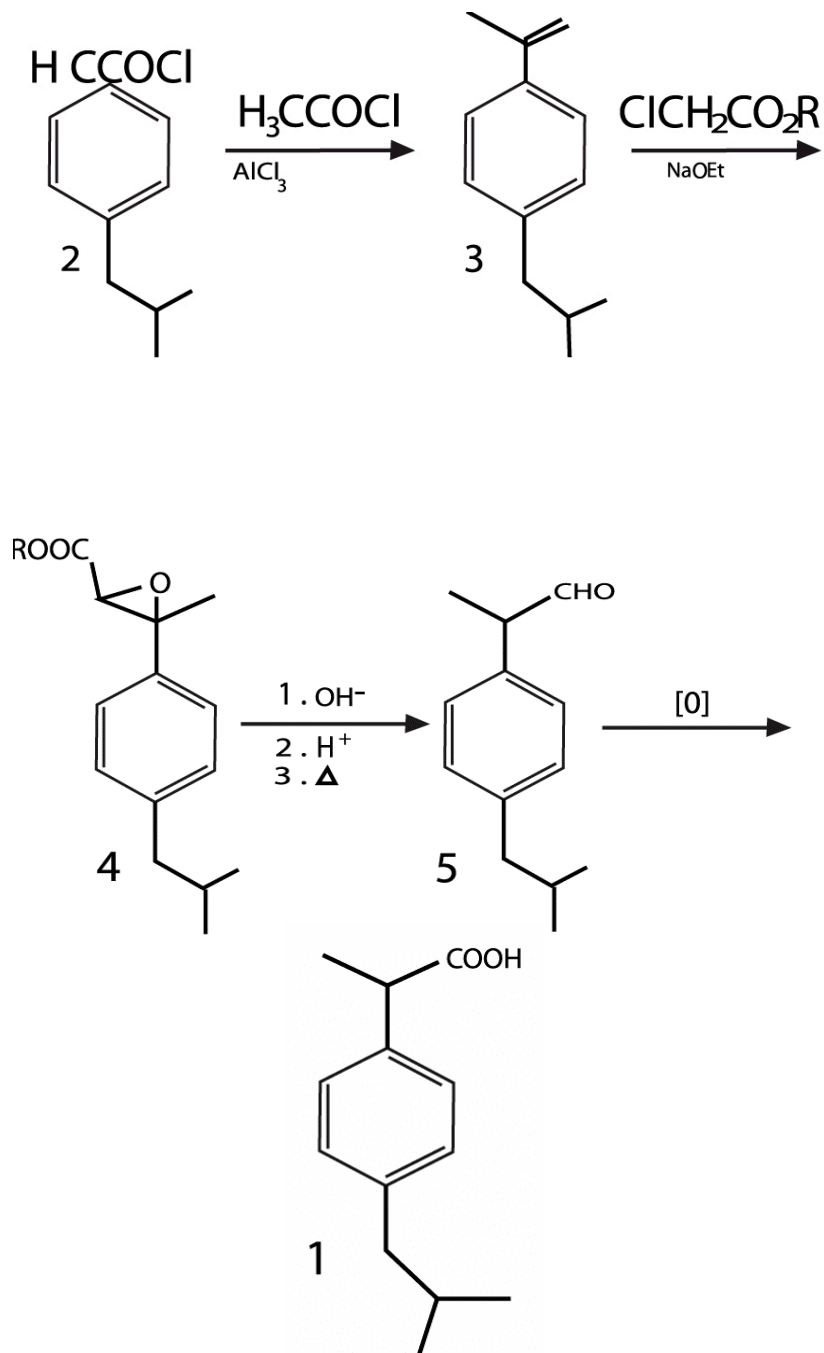
Una de las primeras metodologías para la síntesis industrial del ibuprofeno fue desarrollada por la "Boots Pure Drug Company".

La síntesis inicia con la acetilación del isobutil benceno, catalizada con Al (III) (2) para formar el 4-isobutilacetofenona (3). La reacción de Darzen de (3) con etil cloroacetato y etóxido de sodio da lugar a un epoxiester (4). La hidrólisis y



decarboxilación de (4) proporciona el aldehído (5), el cual es oxidado para generar el ibuprofeno(1). (Brittain, 2001).

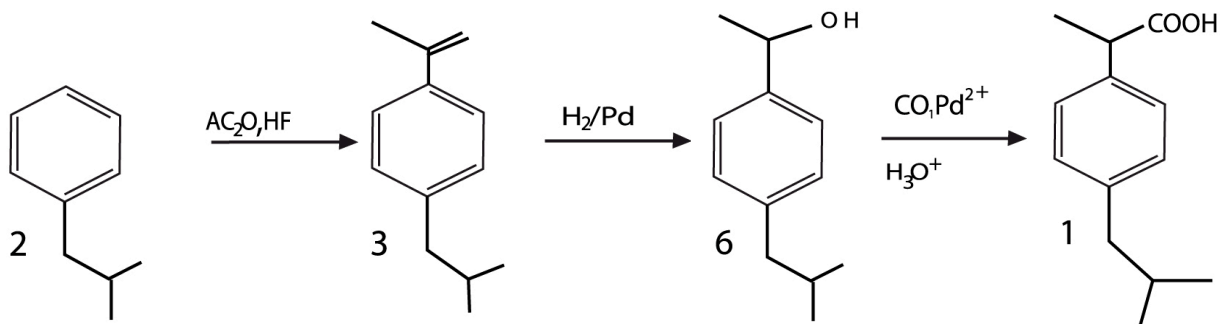
Figura 4.1 Síntesis Tradicional del Ibuprofeno



Recientemente se ha desarrollado una ruta sintética más corta, que involucra tres reacciones catalizadas. En esta ruta, se utiliza paladio en el último paso para introducir el grupo ácido carboxílico. (Elango et al., 1988)



Figura 4.2 Síntesis del Ibuprofeno Catalizada por Pd



#### d) PROPIEDADES FÍSICAS

##### *Polimorfismo*

Aunque no se han reportado polimorfos del ibuprofeno base, el lisinato de ibuprofeno existe en dos formas polimórficas. Cabe destacar que a pesar de que el ibuprofeno obtenido por síntesis diferentes tiene el mismo punto de fusión, presenta diferentes características superficiales que pueden influir en los procesos de granulación y compactación. Adicionalmente, algunos estudios han reportado que los cristales de ibuprofeno son susceptibles a modificaciones superficiales durante el proceso de compactación y que estos pueden afectar el comportamiento de disolución de la forma farmacéutica.

##### *Actividad Óptica*

El ibuprofeno se obtiene como una mezcla racémica, por lo que no exhibe actividad óptica. Sin embargo el racemato puede ser separado fácilmente en sus enantiómeros. (Brittain, 2001).

#### d) MÉTODOS DE ANÁLISIS TÉRMICO

##### *Comportamiento de Fusión*

El ibuprofeno existe como un sólido cristalino estable, con un punto de fusión de 75 - 77° C. Curiosamente si el sólido es llevado a su punto de fusión y se deja enfriar a temperatura ambiente en un contenedor estático, puede mantenerse como una fase oleosa por varias horas e incluso unos pocos días. La combinación de un punto bajo de fusión y una cinética lenta de recristalización debe ser considerada cuando se formula al ibuprofeno, pues el calor generado por la fricción entre los punzones y el polvo durante la compresión puede causar su



fusión e incluso su sublimación, por lo cual, estas características deben ser consideradas para el diseño del proceso de manufactura y los protocolos de estabilidad.

Finalmente, debe resaltarse que el ibuprofeno es capaz de formar mezclas eutécticas con varios excipientes.

#### *Calorimetría Diferencial de Barrido*

El ibuprofeno exhibe una endoterma de fusión, que comienza a los 74° C y tiene un pico máximo a los 75.6° C. La muestra funde sin descomposición y la entalpía de fusión es de 77.2 J/g. (Brittain, 2001).

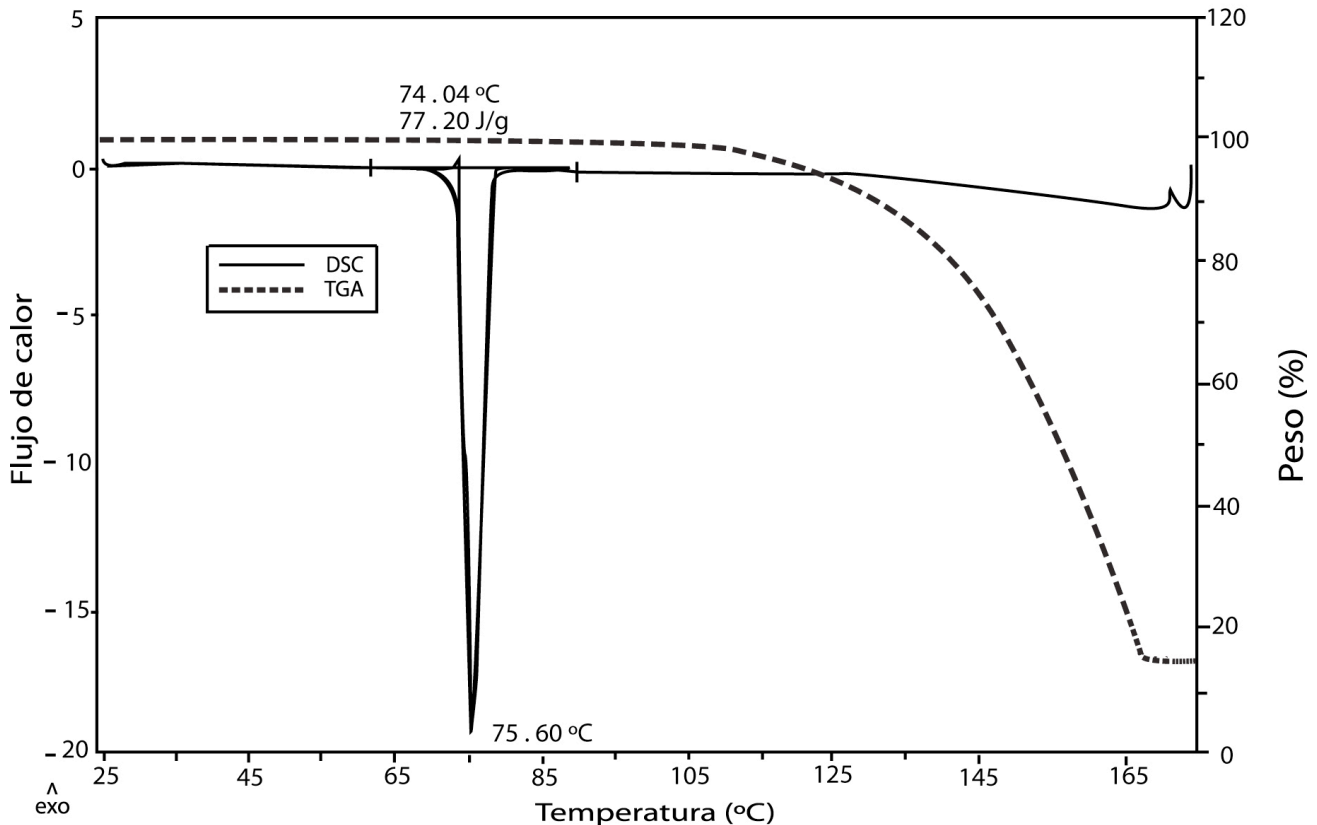
#### *Termogravimetría*

Debido a la tendencia del ibuprofeno a sublimarse, la pérdida de masa que inicia alrededor de los 100° C no puede ser exclusivamente asignada a su descomposición. (Brittain, 2001).

5

5

Figura 4.4 Ibuprofeno, Termogravimetría y DSC







### e) CONSTANTES DE IONIZACIÓN

El pKa del ibuprofeno se encuentra en el rango de 4.5-4.6. (Brittain, 2001).

### f) SOLUBILIDAD

La solubilidad del ibuprofeno en disolventes no acuosos esta compilada en el cuadro 4.2. El ibuprofeno es fácilmente soluble en alcoholes, hidrocarburos halogenados, dimetil sulfóxido y moderadamente soluble en disolventes no polares. (Brittain, 2001).

En medios acuosos es insoluble a pH ácido y fácilmente soluble en medio básico.

*Cuadro 4.2 Solubilidad del Ibuprofeno en varios disolventes*

Disolvente	Solubilidad aproximada (%w/w)
Heptano	2.3-2.6
Hexano	3.3-3.6
Éter de petróleo	2.3-2.6
Cloroformo	65-70
Alcohol etílico (deshidratado)	60-70
Alcohol isopropílico	30-32
N-octanol	20-22
Propilenglicol	20-25
Etilen glicol	2-2.5
Acetona	60-65
Alcohol metílico	60-70
Dimetilsulfóxido	55-60

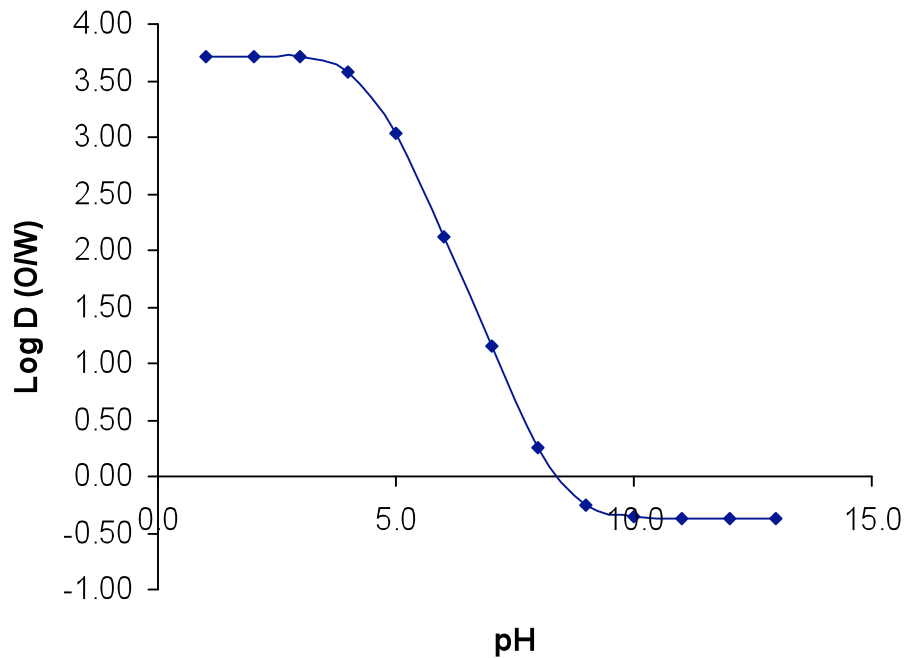
*Cuadro 4.3 Solubilidad del ibuprofeno en sistemas acuosos (a 20° C)*

Ph	Solubilidad( mg/mL)
3.0	<0.1
1	<0.1
4	<0.1
6	1.0



## g) COEFICIENTE DE PARTICIÓN

Figura 4.5 Coeficiente de partición octanol-agua para el Ibuprofeno a diferentes valores de pH (Brittain, 2001).



pH	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0	13.0
Log D	3.7	3.7	3.7	3.6	3.0	2.1	1.2	0.3	-0.3	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4

## h) ESPECTROSCOPÍA

Figura 4.6 Espectroscopia UV/VIS (metanol y NaOH 0.1N) (Brittain, 2001).

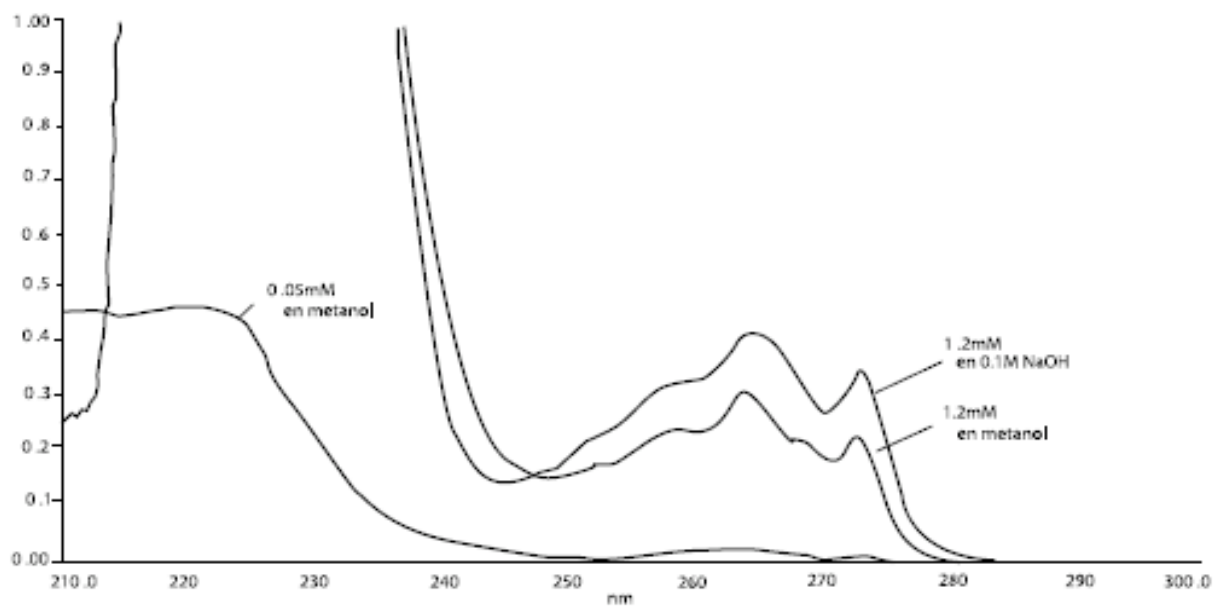
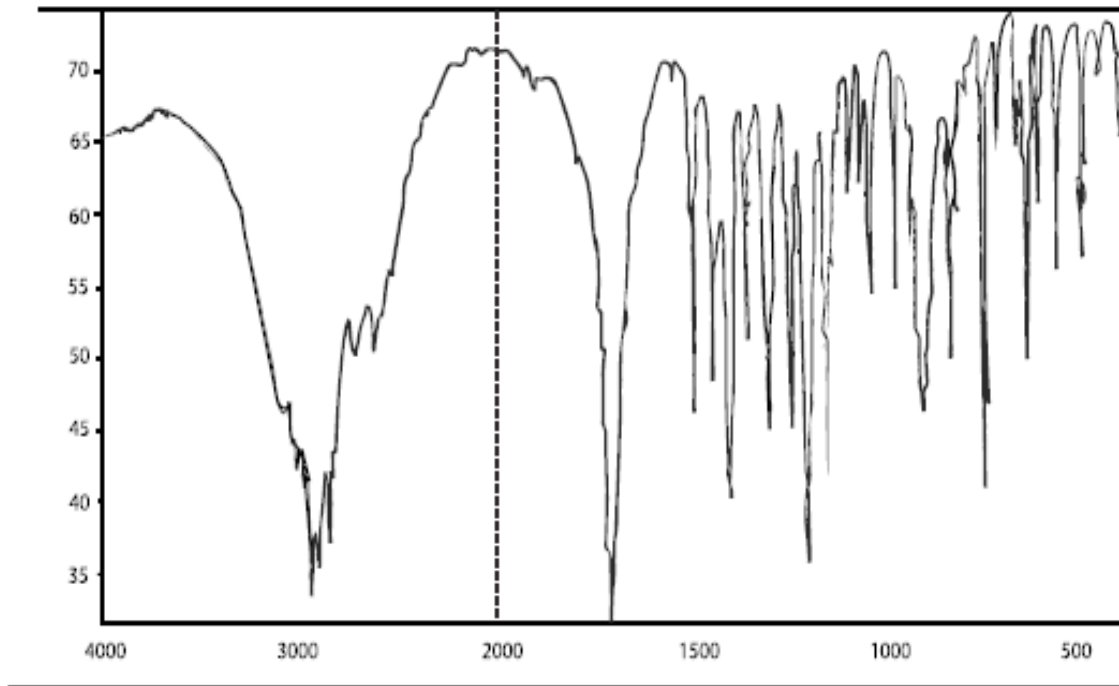




Figura 4.7 Espectroscopia Vibracional (Pastilla de KBr) (Brittain, 2001).



i) ESPECTROMETRÍA (Brittain, 2001)

Figura 4.8 Espectrometría <sup>1</sup>H-NMR (400 Mhz, dimetil sulfóxido deuterado)

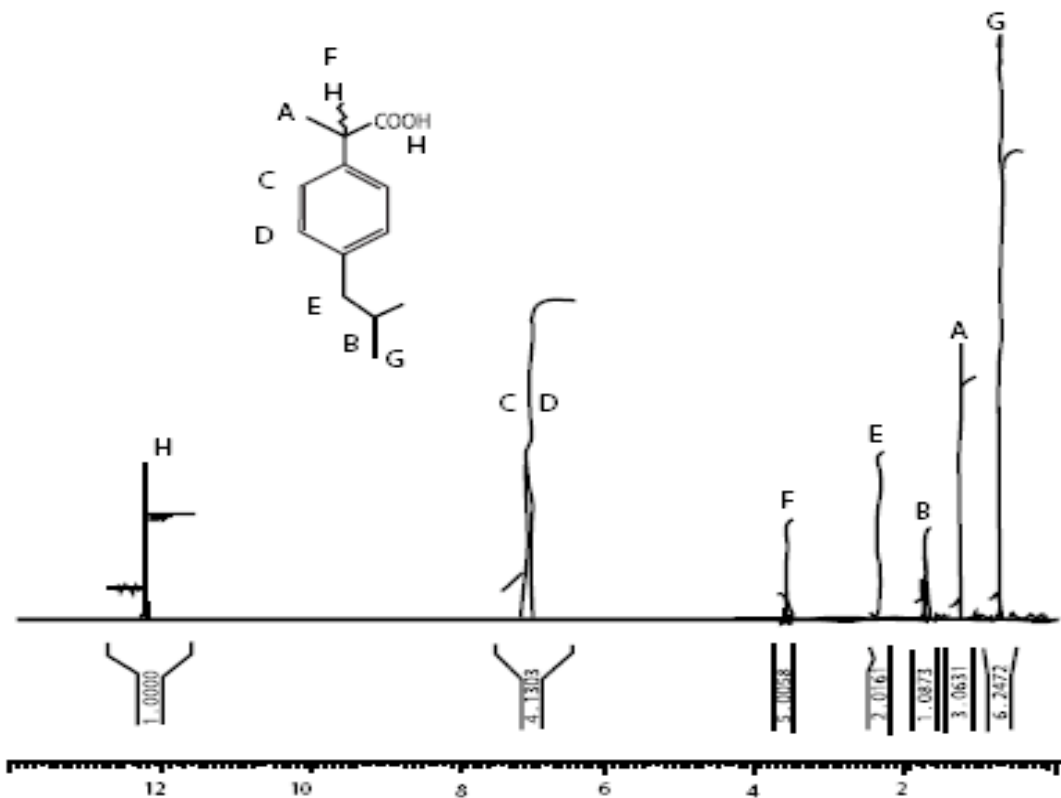
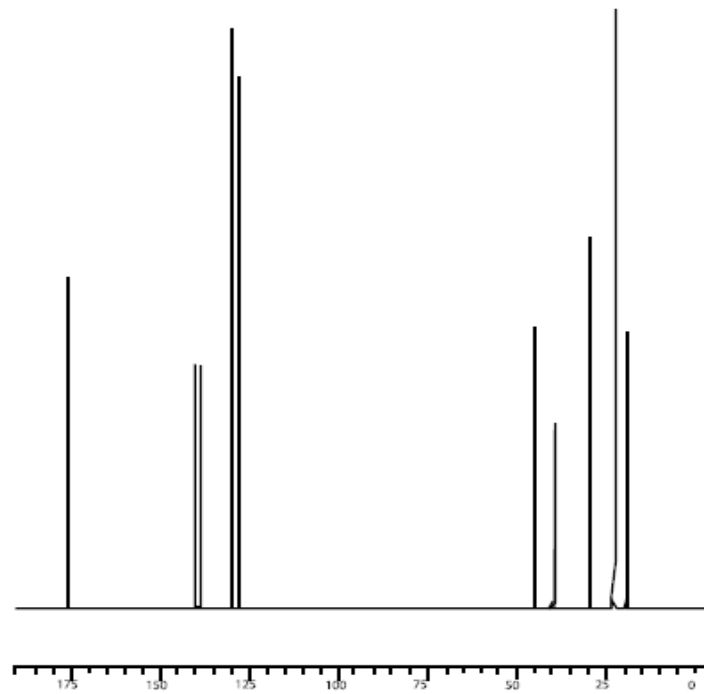


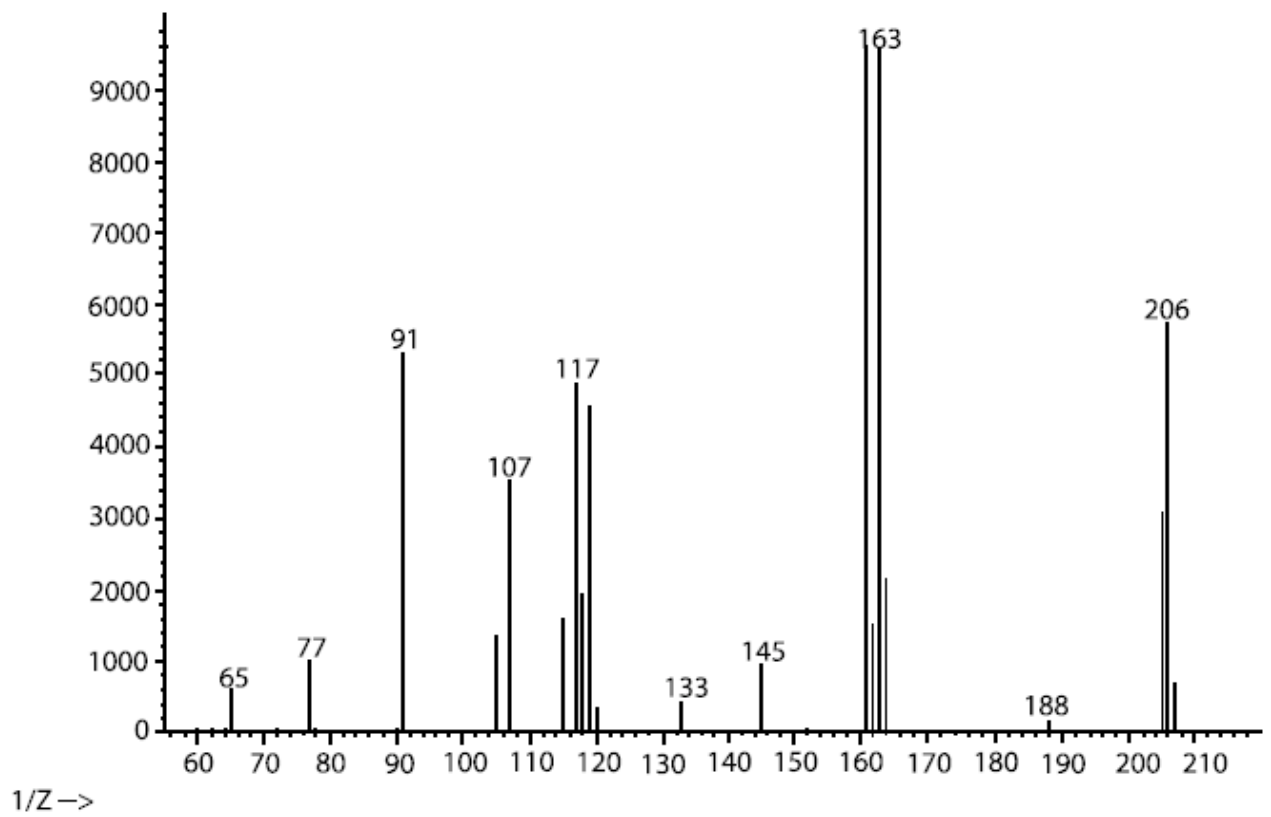


Figura 4.9 Espectrometría  $^{13}\text{C}$ -NMR (400 Mhz, dimetil sulfóxido deuterado)



j) ESPECTROMETRÍA DE MASAS (Brittain, 2001).

Figura 4.10 Ibuprofeno: Espectrometría de Masas





#### k) ESTABILIDAD

En estado sólido, el ibuprofeno es considerablemente estable cuando se sujeta a pruebas de estabilidad acelerada. Menos del 0.1% de degradación del ibuprofeno se observa después de exponerlo por varios meses a las siguientes condiciones:

- Temperatura y humedad ambiente.
- Temperatura ambiente y 100% de humedad relativa.
- 37° C y 60° C, humedad relativa ambiental.
- 37° C, 100% de humedad relativa.
- Luz UV a temperatura ambiente. (Brittain, 2001).

#### l) CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

La *British Pharmacopeia* recomienda utilizar silica gel como fase estacionaria. Para la prueba se disuelven 50mg de muestra en 10mL de cloruro de metileno. La referencia de ibuprofeno se prepara de la misma forma. Se aplican aproximadamente 5µL de cada disolución en una placa de 10cm. La fase móvil esta constituida por ácido acético anhidro, acetato de etilo y hexano en una proporción 5:25:75 v/v. Después del desarrollo de la placa, esta se deja secar y se revela con permanganato de potasio diluido en ácido sulfúrico (10g/L) y se calienta a 120° C por 20 minutos. Al final, la placa puede observarse en una lámpara UV a 365nm. (BP, 1999).

### 4.3 Selección de Excipientes para Pruebas de Preformulación

#### 4.3.1 Componentes de una tableta y métodos de producción

En el caso de las tabletas, los excipientes proveen las propiedades adecuadas para dispensar el principio activo en la dosis correcta y con propiedades de liberación reproducibles. Existen 5 tipos principales de excipientes:



Cuadro 4.4 Tipos de excipientes y su función principal

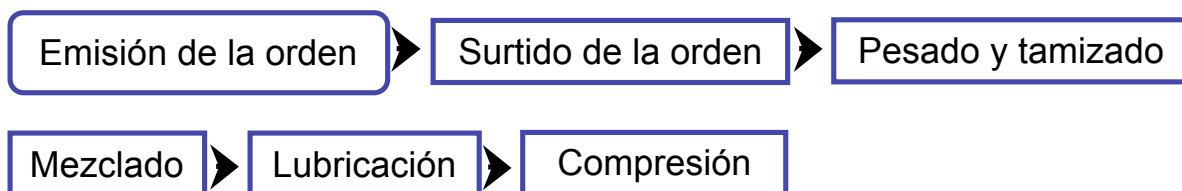
Tipo de excipiente	Función
Diluentes	Proporcionan volumen y fluidez al granel.
Aglutinantes	Confieren cohesividad a los polvos.
Lubricantes Deslizantes	Mejoran el flujo de los polvos evitando la fricción polvo-polvo y polvo-metal.
Desintegrantes	Permiten controlar la velocidad de disgregación de la tableta y con ello la liberación del activo.

(Lieberman, 1992). De forma opcional, las tabletas pueden contener saborizantes y colorantes, para mejorar su aceptación y su identificación por parte del paciente; antioxidantes, cuando el fármaco se oxida con facilidad y tensoactivos para facilitar la disolución del activo. (Remington, 2004)

Existen tres métodos básicos para la fabricación de tabletas, la vía húmeda, la vía seca y la compresión directa, la selección del método depende de las propiedades físicas y químicas del activo:

Figura 4.11 Diagrama de Flujo de los métodos de manufactura de tabletas.

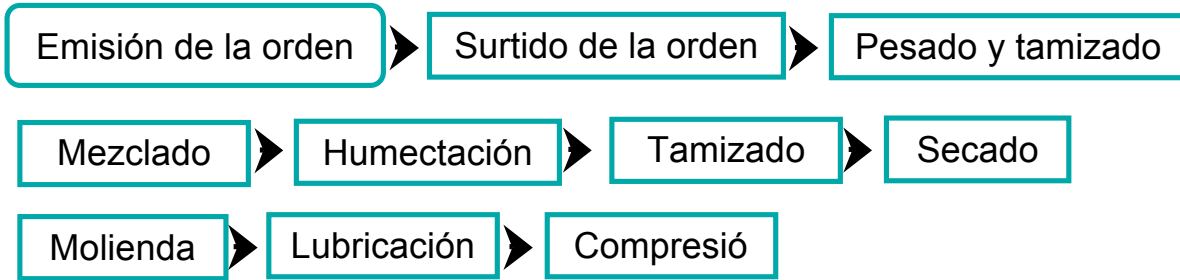
### COMPRESIÓN DIRECTA



La compresión directa es el proceso más corto para la obtención de tabletas; sin embargo para ser procesado por esta vía, el activo debe presentar buen flujo y buena compresibilidad.

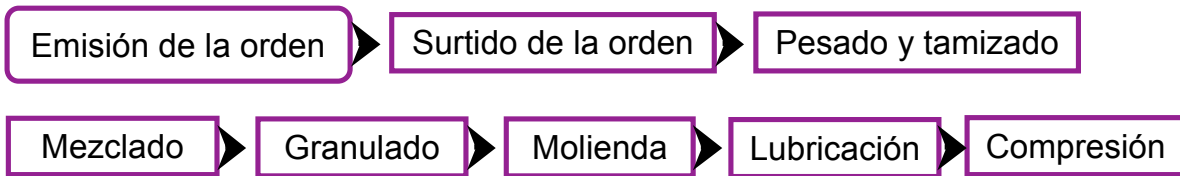


### GRANULACIÓN VÍA HÚMEDA



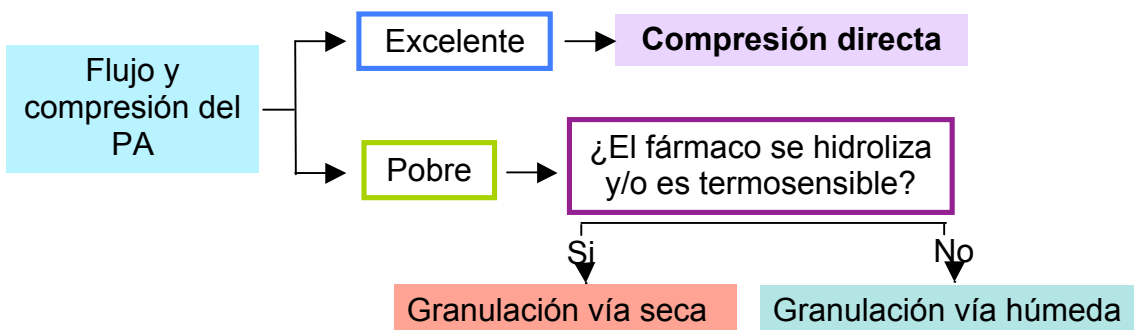
A pesar de que esta vía más larga (y también la más costosa); es la mejor para fármacos con flujo y propiedades de compresibilidad pobres. Se debe tener cuidado de no utilizar fármacos o excipientes sensibles a la humedad o al calor.

### GRANULACIÓN VÍA SECA



Por vía seca se procesan aquellos activos de flujo pobre y baja compresibilidad que sean inestables al calor y la humedad. La compresión se realiza con ayuda de unos rodillos que permiten obtener los gránulos

Figura 4.12 Selección del método de fabricación de una tableta





#### 4.3.2 Selección de Excipientes

Para definir que excipientes se van a utilizar en las pruebas de compatibilidad, es indispensable seleccionar la vía de fabricación del medicamento; pues para cada uno de los procesos anteriores existen tipos específicos de excipientes, aunque cabe resaltar que hay excipientes que pueden resultar útiles en cualquier proceso. Por ejemplo, los materiales utilizados en compresión directa presentan propiedades de flujo y compresibilidad muy buenos, mientras que los de granulación no necesariamente los tienen.

A pesar de que la bibliografía no reporta el comportamiento reológico del ibuprofeno, se encontraron 4 propuestas de formulaciones para tabletas de ibuprofeno. En todos los casos se seleccionó la vía húmeda como método de fabricación. A partir de esta información se puede inferir que el flujo o la compresibilidad del ibuprofeno son malas, y por lo tanto se deben seleccionar materiales para granulación por vía húmeda para la fabricación de las tabletas.

(Kohli, 2000), (Niazi, 2004).

Los excipientes que se exponen a continuación fueron seleccionados debido a que son de uso común en la granulación por vía húmeda, hay suficiente información disponible acerca de ellos y cubren las 4 funciones básicas que se expusieron en la tabla 4.4. (Rowe, 2005).

*Cuadro 4.5 Excipientes seleccionados para pruebas de compatibilidad con Ibuprofeno*

Excipiente	Descripción	Aplicaciones	Incompatibilidades
Carbonato de Calcio	Cristales o polvo blanco, inodoro e insípido.	Diluyente.	Sales de amonio.
Aceite de Castor Hidrogenado	Hojuelas o polvo, blancos.	Lubricante (0.1-2%). Agente de liberación prolongada (5.-10%).	-----
Celulosa Microcristalina	Polvo blanco, poroso, inodoro e insípido. (Diferentes tamaños y grados de humedad).	Adsorbente (20-90%). Diluyente/Aglutinante (20-90%). Desintegrante (5-15%).	Agentes oxidantes fuertes.





Excipiente	Descripción	Aplicaciones	Incompatibilidades
Dióxido de Silicio Coloidal SiO <sub>2</sub>	Polvo amorfo, muy ligero, tamaño de partícula promedio de 15nm, inodoro, ligeramente blanco e insípido.	Deslizante, (0.1-0.5%). Adsorbente, desintegrante.	Dietilestilbestrol
Croscarmelosa sódica	Polvo blanco-grisáceo e inodoro.	Desintegrante (0.5-5%).	Ácidos fuertes, sales solubles de metales (Al, Hg, Zn).
Crospovidona	Polvo blanco, con excelente flujo, inodoro e insípido.	Desintegrante (2-5%)	-----
Hidroxipropilmetil celulosa	Polvo blanco fibroso y granular.	Aglutinante (2-5%). Agente de liberación prolongada (2-20%).	Agentes oxidantes.
Lactosa Monohidratada	Polvo o partículas blancas, inodoras, con sabor ligeramente dulce.	Diluyente	Aminas primarias (Condensación tipo Maillard), aminoácidos y anfetaminas
Estearato de Magnesio	Polvo blanco, ligero y ceroso, de sabor y aroma similares al del ácido esteárico.	Lubricante (0.25-5%).	Ácidos fuertes, bases y oxidantes fuertes.
Manitol	Polvo blanco, inodoro, cristalino y dulce.	Diluentes (10-90%).	Al, Cu, Cimetidina (reduce su biodisponibilidad).
Povidona	Polvo fino, blanco – crema, inodoro e higroscópico.	Acarreador de fármacos (10.0-25.0%). Aglutinante (0.5-5.0%).	Sulfatiazol, ácido salicílico, fenobarbital, taninos.
Glicolato Sódico de Almidón	Polvo con excelente flujo, blanco, inodoro e insípido.	Desintegrante (2-8%)	Ácido Ascórbico
Estearil Fumarato de Sodio	Polvo fino, blanco.	Lubricante (0.5-2%)	Acetato de clorhexidino
Almidón Pregelatinizado	Polvo inodoro, blanco, y con un sabor particular.	Diluyente (5-75%). Aglutinante (5-20%). Desintegrante (5-10%)	-----



#### 4.4 Diseño del Estudio de Compatibilidad.

##### a) Condiciones de interacción

Tomando en cuenta la información recabada acerca de las propiedades del ibuprofeno y los excipientes seleccionados se establecerán las condiciones para el estudio de compatibilidad.

MUESTRA: <b>Tiempo cero</b>	
Tiempo de análisis	Inmediato, máximo 24 horas
Condiciones	Temperatura y humedad ambiente. Frasco vial transparente.
Finalidad	En caso de interacción, el excipiente puede ser descartado rápidamente.
MUESTRA: <b>1</b>	
Tiempo de análisis	Tres semanas
Condiciones	37°C ± 2°C/75% ± 5% HR. Frasco vial ámbar.
Finalidad	Condiciones de estabilidad acelerada, con la finalidad de aumentar la probabilidad de interacción.
MUESTRA: <b>2</b>	
Tiempo de análisis	Dos semanas
Condiciones	50°C ± 2°C/65% ± 5% HR.
Finalidad	Condiciones de estabilidad acelerada, con la finalidad de aumentar la probabilidad de interacción.

*Cuadro 4.6 Condiciones para el análisis de compatibilidad*

El tiempo cero resulta útil porque permite eliminar del estudio a aquellos excipientes que interaccionen rápidamente con el fármaco. La muestra 1 se somete a las condiciones de estabilidad acelerada que marca la NOM-073, pero con el tiempo de interacción reducido de 3 meses a 3 semanas. Se puede pensar que el tiempo asignado es muy corto, pero la bibliografía consultada sostiene que el periodo de tiempo de prueba varía entre los 15 y 30 días.

Las condiciones para la muestra 2 se seleccionaron en base al punto de fusión del fármaco, de 70-75° C. En este caso el tiempo de interacción es de tan solo 2



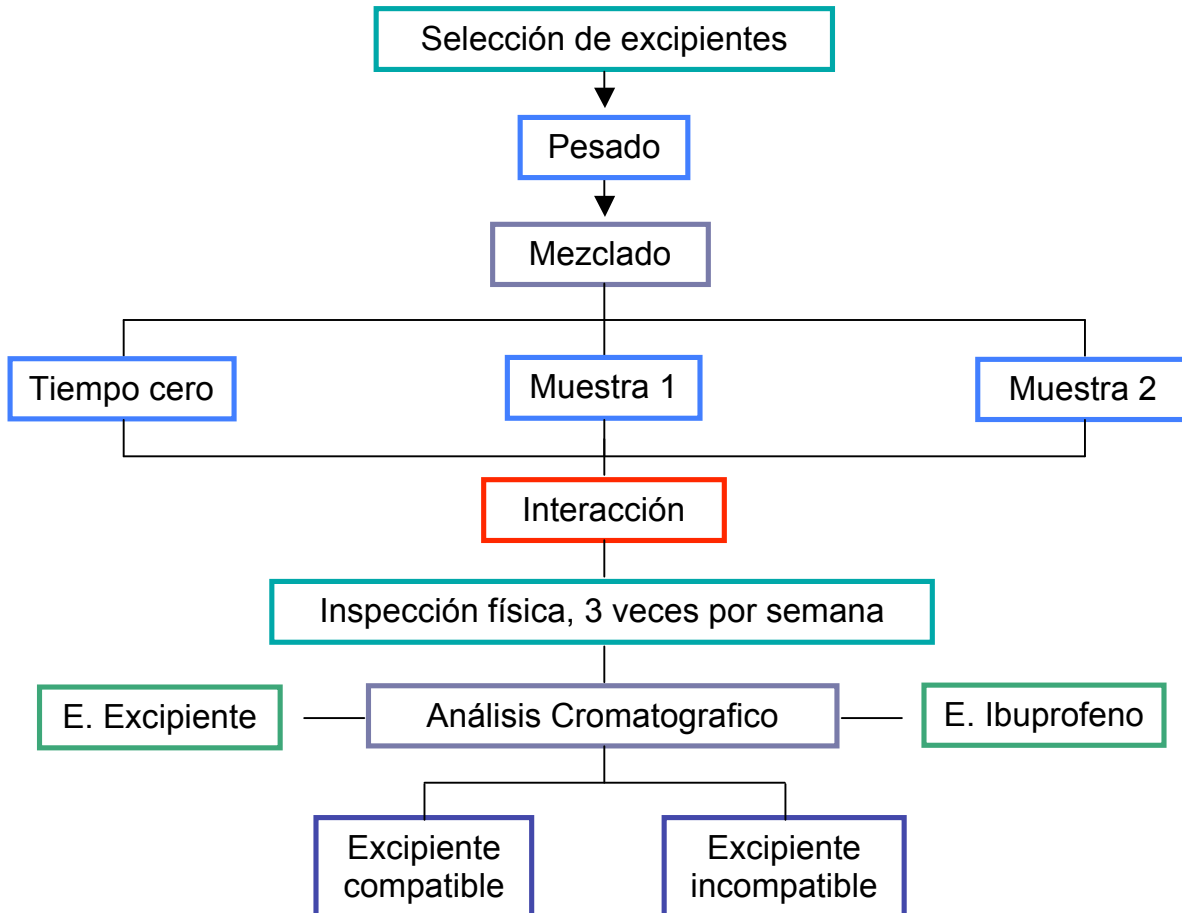
semanas, el tiempo se redujo en comparación al tiempo definido para la muestra 1, debido a que las condiciones de temperatura y humedad a las que se mantendrán las muestras son más “agresivas” que las de la muestra 1.

La relación fármaco/excipiente se establecerá en base al porcentaje de excipiente que se utiliza en la formulación, tal y como lo aconseja Banker, pues sostiene que de esta manera, se obtiene un resultado representativo con respecto a una formulación real.

*Cuadro 4.7 Proporción fármaco-excipiente para pruebas de compatibilidad*

Tipo de excipiente	Proporción Fármaco:Excipiente
Diluyente	1:1
Aglutinante	1:10
Desintegrante	1:10
Lubricante/Deslizante	1:20

*Figura 4.12 Esquema general para el análisis de compatibilidad*





Finalmente se recomienda inspeccionar las muestras al menos tres veces por semana con la finalidad de detectar cambios de coloración, desprendimiento de gases u otros cambios físicos. De ser así, la muestra que presente el cambio puede ser eliminada del estudio por resultar incompatible con el fármaco.

La muestra a utilizar será de 1.0g, Cada muestra se mezclara manualmente hasta homogeneidad, y se repartirá entre los 3 viales (que representan las 3 condiciones antes establecidas). Se considera que esta muestra es suficiente para realizar la prueba al menos por triplicado, pues la *British Pharmacopeia* indica que se requieren como mínimo 50mg de ibuprofeno para su análisis en cromatografía en capa fina.

Figura 4.13 Preparación de las muestras para el análisis de compatibilidad





b) Condiciones para la TLC

### Fase Estacionaria

Silica gel

### Fase Móvil

La fase móvil se prepara con ácido acético anhidro, acetato de etilo y hexano en una proporción 5:25:75 v/v.

### Preparación de la muestra y el estándar de ibuprofeno

Para la prueba se disuelven 50mg de muestra en 10mL de cloruro de metileno. La referencia de ibuprofeno se prepara de la misma forma. Se aplican aproximadamente 5µL de cada disolución en una placa de 10cm. Debido a que el carácter de la prueba es cualitativo, la muestra puede ser tomada con un tubo capilar de vidrio.

### Preparación del estándar del excipiente

La preparación del estándar del excipiente debe realizarse en base a su solubilidad.

*Cuadro 4.8 Solubilidad de los excipientes de prueba*

Excipiente	Solubilidad
Carbonato de Calcio	Su solubilidad en agua se ve incrementada con la adición de sales de amonio
Aceite de Castor Hidrogenado	Soluble en acetona, cloroformo y cloruro de metileno
Celulosa Microcristalina	Ligeramente soluble en soluciones al 5% w/v de NaOH
Dióxido de Silicio Coloidal SiO <sub>2</sub>	Soluble en disoluciones de NaOH (caliente) y ácido fluorhídrico.
Croscarmelosa sódica	Prácticamente insoluble en acetona, etanol y tolueno
Crospovidona	Prácticamente insoluble en agua y los disolventes orgánicos mas comunes.
Hidroxiopropilmetil celulosa	Soluble en mezclas metanol/diclorometano, etanol/diclorometano y agua/alcohol.



Excipiente	Solubilidad
Lactosa Monohidratada	Soluble en agua
Estearato de Magnesio	Ligeramente soluble en benceno y etanol tibios.
Manitol	Soluble en disoluciones básicas
Povidona	Soluble en disoluciones ácidas, cloroformo, etanol, metanol y agua.
Glicolato Sódico de Almidón	Moderadamente soluble en etanol
Estearil Fumarato de Sodio	Ligeramente soluble en metanol
Almidón Pregelatinizado	Ligeramente soluble en agua

Se deben disolver 50mg del excipiente en 10mL de alguno de los disolventes. (Se elige el disolvente más volátil que sea capaz de solubilizar totalmente a la muestra). (Rowe, 2005)

### **Revelado**

Después del desarrollo de la placa, esta se deja secar y se observa a una longitud de onda de 365nm (región visible del espectro). También puede revelarse con permanganato de potasio diluido en ácido sulfúrico (10g/L). Primero se adiciona el ácido a la placa y se calienta a 120° C por 20 minutos.

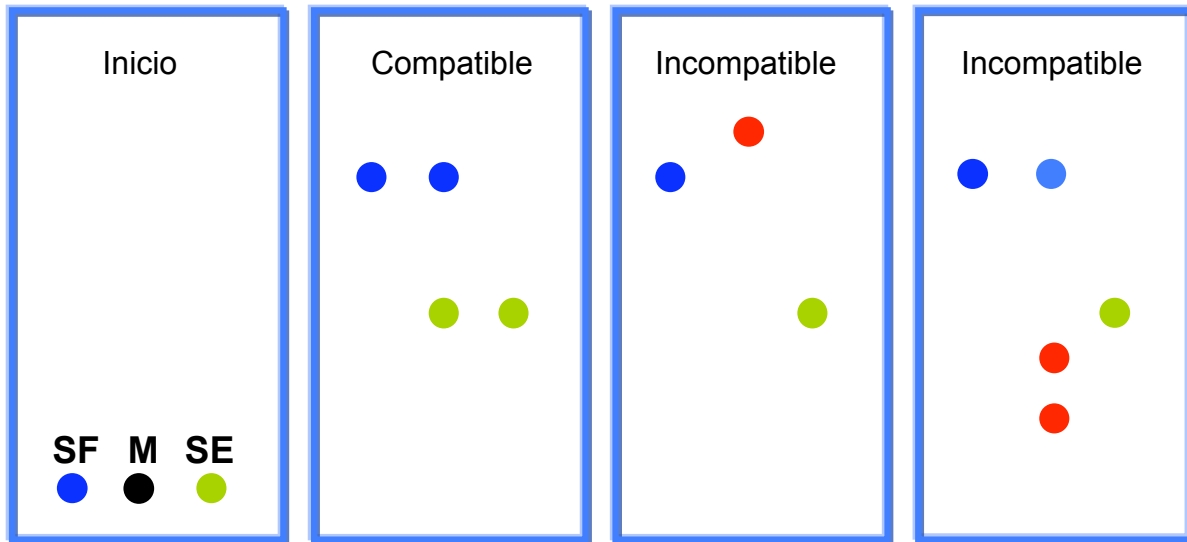
### **4.5 Documentación y Análisis de Resultados**

Después del revelado de las placas, es necesario determinar el Rf de las manchas y fotografiar las placas para documentar los resultados obtenidos.

De inicio es necesario evaluar la forma de las manchas, si las de la muestra difieren mucho de los estándares es posible pensar que existe incompatibilidad. Los resultados que inconfundiblemente indican incompatibilidad son variación del Rf, pérdida de manchas u obtención de manchas nuevas en el carril de la muestra.



Figura 4.14 Ejemplos de cromatoplasmas



SF: Estándar del Fármaco ●

M: Muestra ●

SE: Estándar del Excipiente ●

Producto de degradación ●

Finalmente, todos aquellos excipientes que no exhiban señales de interacción con el fármaco, pueden ser utilizados en las formulaciones piloto para establecer la fórmula final, con la seguridad de que se obtendrá una forma farmacéutica segura y estable.



## CONCLUSIONES

Se cumplieron los objetivos debido a que:

- Se estableció un panorama general acerca de los estudios de preformulación y su importancia en la generación de formas farmacéuticas, seguras, estables y eficaces.
- Se expusieron los fundamentos, ventajas y desventajas de la calorimetría diferencial de barrido y de la cromatografía en capa fina, con base a su aplicación en el estudio de compatibilidad fármaco excipiente.
- Se proporcionó una guía básica para el análisis de compatibilidad mediante cromatografía en capa fina, en donde se establecieron las condiciones experimentales para el análisis, así como la interpretación de los resultados.





## BIBLIOGRAFÍA

1. AVENDAÑO, María del Carmen, *Introducción a la química farmacéutica* McGraw-Hill, 2000, México 134-137.
2. BANKER S.G, RHODES T.C *Modern Pharmaceutics*. Third edition, Marcel Dekker Inc. 1995, USA. 213-234.
3. BERNARD Fried, *Thin layer chromatography* 1999. Chap. I,II, IV.
4. *British Pharmacopeia*, 1999.
5. BRITAIN G.H. *Analytical profiles of drug substances and excipients*, Academia Press, 2001, Vol 15, USA. Chap. Ibuprofen.
6. ELANGO V., MURPHY M.A., SMITH B.L., et al. Eur. Pat. Appl. 1988. 284, 310.
7. GEISS F. *Fundamentals of Thin-layer Chromatography (Planar Chromatography)*, 1987, Heidelberg, Germany. 16–20.
8. GOODMAN G.A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, McGrawHill, 2003, 721-723 .
9. JORK H., FUNK W., FISCHER W. and WIMMER H.. *Thin-Layer Chromatography Reagents and Detection* Vol. 1b, VCH Verlags, Cambridge, 1994. 193
10. KING F.D. *Medicinal Chemistry*. R.S.C. 2002, Great Britain. 182-194.
11. KOHLI D.P.S., SHAH D.H., *Manual de Formulaciones de Preparaciones Farmacéuticas*, 2ª edición, Easter Publishers, 2000, New Delhi. 215-219
12. LIEBERMAN A. H., LACHMAN L., KENNETH E. A., *Pharmaceutical dosage forms, Parenteral medication*. Second edition, Volume 1, Marcel Dekker Inc, 1992, USA. 115-150.
13. RÁCZ C. *Drug formulation*. John Wiley and Sons, 1987, Hungary. 155-200.
14. REMINGTON P.J., *Farmacía*. Vigésima edición, tomo 1, Editorial Medica Panamericana, 2003, Buenos Aires. 708-713, 830-831.
15. ROWE C.R, SHESKEY P., OWEN C.S *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2005, Pharmaceutical Press.



16. SARFARAZ K. N. *Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations Compressed Solid Products Vol 1* CRC PRESS, 2004, USA. Chap 2 XIV
17. SHERMA Joseph, *Handbook of thin layer chromatography* 2003. 231-249
18. SNYDER L.R. and GLAJCH J.L., *J. Chromatogr.*, 1982, 248, 165–182.
19. SWARBRICK J. *Encyclopedia of pharmaceutical technology* Third edition, Volume 3, Informa Health Care, 2007, USA. 1652-1662.
20. TOUCHSTONE J.C. *Practice of Thin Layer Chromatography*, 3rd edn., J. Wiley, Chichester, 1992, UK. 4-11, 18-20, 60-62, 69-84, 87-112, 117-130, 139-182, 184-188.
21. VERMA R.K., GARG S. *Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug–excipient compatibility.* [Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis](#), February 2005. 633-644.
22. VOKV I., FRANKO M., GIBKES J., PROSEK M., BICANIC J., *Planar Chromatogr.*, 1998, 11, 379–382.
23. ZLATAKIS A. and KAISER R.E. (eds), Elsevier, Oxford, UK, 1977, 88–90.
24. NORMA Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos.
25. Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, Artículo 376.
26. [pslc.ws/spanish/dsc.htm](http://pslc.ws/spanish/dsc.htm)



## ANEXO A. EJEMPLO DE DISEÑO EXPERIMENTAL PLACKETT BURMAN

### DISEÑO PARA 11 FACTORES

En este tipo de diseños cada factor esta presente en 2 niveles y el número de experimentos a realizar es múltiplo de 4. Las variables pueden ser cualitativas o cuantitativas. Los niveles pueden ser representados como “0” y “1”, “+1” y “-1” ó simplemente como “+” y “-”. Son muy sencillos de construir, en la mayoría de los casos las líneas se obtienen mediante permutación.

*Cuadro A1. Diseño Plakett-Burman para 8 factores.*

	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$	$X_7$	$y$
1	-	-	-	+	-	+	+	1
2	+	-	-	-	+	-	+	2
3	+	+	-	-	-	+	-	3
4	-	+	+	-	-	-	+	4
5	+	-	+	+	-	-	-	5
6	-	+	-	+	+	-	-	6
7	-	-	+	-	+	+	-	7
8	+	+	+	+	+	+	+	8

Donde “ $y$ ” es el resultado de un experimento. Cada fila representa una corrida experimental y cada columna describe cada una de las 7 variables probadas a dos niveles. La suma de los niveles de cada una de las variables en cada columna es cero.

#### Modelo Matemático

Se postula que el resultado de cada experimento es la suma del efecto de cada una de las variables  $X_1, X_2, \dots, X_n$ . La respuesta obtenida para cada experimento  $j$  es  $y_j$ . A partir de estas suposiciones se puede establecer el siguiente modelo para calcular el resultado del experimento número 8



$$Y_8 = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_5 X_5 + \beta_6 X_6 + \beta_7 X_7 + \varepsilon_8$$

Dónde  $\beta$  se estima mediante la suma de valores de  $y_j$  utilizando el signo de  $\beta$  en una columna:

$X_1$	$y$	Valor de $\varepsilon$
-	1	$-\varepsilon$
+	2	$+\varepsilon$
+	3	$+\varepsilon$
-	4	$-\varepsilon$
+	5	$+\varepsilon$
-	6	$-\varepsilon$
-	7	$-\varepsilon$
+	8	$+\varepsilon$

La ecuación queda como sigue:

$$\begin{aligned} -y_1 + y_2 + y_3 - y_4 + y_5 - y_6 - y_7 + y_8 &= -\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3 - \varepsilon_4 + \varepsilon_5 - \varepsilon_6 - \varepsilon_7 + \varepsilon_8 \\ &= 8\beta_1 - \varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3 - \varepsilon_4 + \varepsilon_5 - \varepsilon_6 - \varepsilon_7 + \varepsilon_8 \end{aligned}$$

ó

$$\beta_1 + 1/8(-\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3 - \varepsilon_4 + \varepsilon_5 - \varepsilon_6 - \varepsilon_7 + \varepsilon_8) = 1/8(-y_1 + y_2 + y_3 - y_4 + y_5 - y_6 - y_7 + y_8)$$

La combinación del lado derecho de la ecuación se representará como  $b_1$ , el cual es un valor estimado de  $\beta_1$ . Esto se debe a que el error aleatorio  $\varepsilon_i$  es aproximadamente cero. Más formalmente:

$$E[b_1] = E[\beta_1] + 0 = E[\beta_1] = \beta_1$$



El cálculo de los coeficientes puede resumirse con la siguiente ecuación:

$$b_0 = 1/8 \sum_{i=1}^8 y_i$$

Finalmente se calculan los coeficientes para todas las variables. Aquellos cuyo valor sea negativo, son los que ejercen un mayor impacto en el resultado de los experimentos.

**ANEXO B. PROVEEDORES DE EQUIPOS DE DSC**

Fabricante	Equipo	Características
NETZSCH	DSC 200 F3 Maia 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Compacto, robusto, operación sencilla de -170° C a 600° C.</li><li>• Corto tiempo de respuesta.</li><li>• Auto muestreador</li><li>• Opera bajo el principio de flujo de calor.</li></ul>
METTLER TOLEDO	DSC1 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ergonómico, diseñado bajo un concepto modular.</li><li>• De -150° C a 700 ° C</li><li>• Muestras desde microgramos</li><li>• Calibración flexible</li></ul>
PERKIN ELMER	PRYS 1 DSC	<ul style="list-style-type: none"><li>• Rápido y preciso</li><li>• Software de uso sencillo</li><li>• Cuenta con auto muestreador</li><li>• Accesorios disponibles para facilitar su manejo.</li><li>• Trabaja bajo el principio de potencia compensada</li></ul>
SHIMADZU	DSC-60/60A 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Cuenta con sistema de enfriamiento acoplado</li><li>• Fácil de limpiar y operar</li><li>• De -150° a 600° C</li></ul>



ANEXO C . REVELADORES COMUNENTE UTILIZADOS EN TLC			
Compuesto	Reactivo	Procedimiento	Resultado
Alcoholes	Sulfato cérico amónico	6% de sulfato cérico amónico en HNO <sub>3</sub> 2N	Manchas marrones sobre fondo amarillo
Aldehídos y cetonas	Dinitrofenilhidrazina	Disolver 0.4 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina en 100 mL de HCl 2N	Manchas amarillas a rojas sobre fondo anaranjado pálido
	<i>o</i> -Dianaisidina	Solución al 1% de reactivo en ácido acético; spray	Manchas amarillas-marrón
Alcaloides y compuestos que contienen colina	Dragendorff-Munier	a) Disolver 1.7 g de nitrato de bismuto y 20 g de ácido tartárico en 80 mL de agua b) Disolver 16 g de KI en 40 mL de agua Reactivo de color: mezclar un volumen de (a) y un volumen de (b), después mezclar 5 mL de esta solución con 10 g de ácido tartárico en 50 mL de agua	Manchas anaranjadas que se intensifican cuando se rocían con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.05N
Alcaloides	Iodoplatino	a) Solución acuosa de cloruro de platino al 5% b) Solución acuosa de KI al 10% Reactivo de color: mezclar 5 mL de (a) con 45 mL de (b), diluir con 100 mL de agua.	Manchas azules o azules violetas que se tornan marrón-amarillas en fármacos básicos; la adición de HCl concentrado, 1 parte a 10 partes de la solución, a menudo incrementar la sensibilidad del reactivo
Amidas	Hidroxilamina - nitrato férrico	a) Disolver 1 g de clorhidrato de hidroxilamina en 9 mL de agua b) Disolver 2 g de hidróxido de sodio en 8 mL de agua c) Disolver 4 g de nitrato férrico en 60 mL de agua y 40 mL de ácido acético Reactivo de color: mezclar un volumen de (a) y un volumen de (b), rociar y secar a 110°C por 10 minutos, rociar con 45 mL de (c) y 6 mL de HCl	Varios colores sobre fondo blanco
Aminas y aminoácidos	Hidrato de tricetohidríndeno (ninhidrina)	Mezclar 95 mL de ninhidrina 0.2% en <i>n</i> -butanol con 5 partes de ácido acético al 10%	Manchas amarillas, rosadas-rojizas o violetas sobre fondo blanco
Aminas aromáticas	Cloruro férrico	1:1 de FeCl <sub>3</sub> y K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] 0.1 M, preparar al momento de usarlo	Manchas azules
Antioxidantes	Dicloroquinona-4-clorimina	Disolver 1 g de reactivo en 100 mL de etanol; rociar de nuevo después de 15 minutos con un 2% de bórax en 4% de etanol	Varios colores sobre fondo blanco
Barbitúricos, ácidos carboxílicos y bases	<i>s</i> -difenilcarbazona, verde de bromocresol	0.1% de reactivo en 95%. Disolver 0.04 g de BCG en 100 mL de etanol; añadir NaOH 0.1N hasta que el color azul aparece solo	Ácidos: amarillos sobre fondo azul; bases: manchas azules sobre fondo azul



<b>Hidrocarburos clorados y pesticidas clorados</b>	Nitrato de plata	Disolver 0.1 g de reactivo en 1 mL de agua, 10 mL de 2-fenoxietanol y 190 mL de acetona; añadir una gota de peróxido de hidrogeno al 30%; rociar y exponer a luz ultravioleta de onda larga	Manchas grises sobre color de fondo
<b>Colesterol y ester de colesterol</b>	Ácido fosfotungstico	10% de reactivo en 90% de etanol, calentar 15 minutos a 100°C	Manchas rojas sobre fondo blanco
<b>Esteres de 3,5-dinitrobenzoato</b>	$\alpha$ -Naftilamina	Disolver 1 g reactivo en 100 mL de etanol	Manchas anaranjadas sobre fondo blanco
<b>Etanolaminas</b>	Benzoquinona	Disolver 1 g de reactivo en 20 mL de piridina y 80 mL de <i>n</i> -butanol	Manchas rojas sobre fondo pálido
<b>Flavonoides</b>	Acetato de uranio	Solución acuosa al 1% , rociar	Manchas marrón
<b>Glicolípidos</b>	Ácido tricloroacético	Rociar con reactivo al 25% en cloroformo; calentar a 100°C por 2 minutos, observar bajo luz ultravioleta	Amarillo fluorescente
<b>Compuestos heterocíclicos de nitrógeno</b>	Ácido malónico	Rociar con 0.2 g de reactivo y 0.1 de salicilaldehido en 100 mL de etanol absoluto; calentar 15 minutos por 120°C; observar bajo luz ultravioleta	Manchas amarillas
<b>Compuestos heterocíclicos de oxígeno</b>	Cloruro de aluminio	Solución de AlCl <sub>3</sub> al 1% en etanol, rociar y exponer a luz ultravioleta de onda larga	Flavonoides producen manchas amarillas fluorescentes
<b>Hidrocarburos</b>	Tetracianoetileno	Solución al 10% en benceno, rociar inmediatamente tras el desarrollo, calentar a 100°C	Hidrocarburos aromáticos muestran varios colores
<b>Ácido hidroxámico</b>	Cloruro férrico	Disolver 2 g de FeCl <sub>3</sub> en 100 mL de HCl 0.5N	Manchas rojas sobre fondo de color
<b>Indoles</b>	Ehrlich	Disolver 10% de <i>p</i> -dimetilaminobenzaldehido en HCL conc.; mezclar esta solución 1:4 con acetona; el color se desarrolla 20 minutos después de rociarlo	Indoles: morado; hidroxindoles: azules; aminas aromáticas y ureidos: amarillo; tirosina: morado-rojo
	Prochazca	Mezclar 10 mL de formaldehido al 35%, 10 mL de HCl al 25% y 20 mL de etanol al 96%; rociar y calentar a 100°C. Observar con luz natural y luz UV.	Manchas amarillas
<b>Iones inorgánicos</b>	Sulfuro de amonio	Saturar agua con H <sub>2</sub> S y alcalinizar con NH <sub>3</sub>	Cationes detectados: Ag, Hg, Co y Ni, negro; Au, Pd, Pt, Pb, Bi, Cu, V, Ti, café; Cd, As, Sn, amarillo; Sb amarillo-anaranjado
<b>Cetonas</b>	Urea	5 g de reactivo en 20mL de HCl 2M más 100 mL de etanol	Manchas azules
<b>Lípidos</b>	2',7'-diclorofluoresceina	Rociar con solución al 0.2% en etanol al 96%. Observar bajo luz UV	Lípidos saturados e insaturados muestran manchas verdes sobre fondo morado.