



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA: QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**ESTABILIDAD EN USO DE METOTREXATO PREPARADO EN SOLUCIÓN DE
GLUCOSA Y BICARBONATO DE SODIO PARA USO EN INFUSIÓN.**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A

Sandra García Mendoza
Mary Carmen Rodríguez Uribe

DIRECTORA: Dra. Elizabeth Guadalupe Sánchez González

ASESORA: MASS. Cynthia Espinosa Contreras

ASESOR: QFB. Humberto Daniel Rodríguez Gaspar



Ciudad de México, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por formarnos como profesionales y darnos las herramientas necesarias para el ámbito laboral.

Al Laboratorio de Investigación Farmacéutica por abrirnos las puertas y brindarnos el apoyo durante el proceso.

A mi jurado: Dra. Elizabeth Sánchez, Mtra. Cynthia Espinosa, Dr. Vicente Hernández, Q.F.B Daniel Humberto Rodríguez y M. en C. Jose Ignacio Vazquez, por su disposición y apoyo para la revisión de este trabajo.

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT IT200323. Efectividad antihiper glucemiante de las matrices monolíticas de silicio que contienen glibenclamida preparadas por el método sol-gel.

Dedicó este trabajo escrito a mis padres, María Concepción y Jaime, por acompañarme y apoyarme durante mi trayectoria escolar y personal y sobre todo por escucharme y darme excelentes consejos. A mis hermanos, Lorena y Arturo por todo su apoyo incondicional durante este lapso y por motivarme a continuar siendo mejor persona.

Y a mi compañera de tesis Mary por su apoyo y sobre todo el trabajo en equipo que realizamos para culminar este proyecto.

Dedicatoria

A mí mamá Cruz Uribe por motivarme en cada etapa de este proceso y acompañarme en todo este camino para lograr terminar mi carrera. Por cada palabra, ánimo y amor para siempre dar lo mejor de mí. A mis hermanos Emmanuel, Angel y Juan José por siempre escucharme y estar conmigo en cada momento.

A la señora Alberta y David por permitirme estar en casa y darme amor.

A mi compañera Sandra por siempre mantener un equipo y comunicación para terminar esta tesis. Gracias por tu linda amistad en todos estos años que llevamos juntas en la escuela.

Índice

1. Introducción	5
2. Marco Teórico	6
2.1 Metotrexato	6
2.1.1 Historia del metotrexato	6
2.1.2 Propiedades 4,5,7	6
2.1.3 Propiedades farmacocinéticas	8
2.1.4 Estabilidad del Metotrexato	9
2.2 Estabilidad	15
2.2.2 Medicamento genérico, conocido y remedio herbolario	15
2.3 Fotoestabilidad	16
2.4 Estabilidad en uso	17
3. Planteamiento del problema	19
4. Pregunta de investigación	19
5. Objetivos	20
6. Método	21
6.1 Universo	21
6.2 Materiales y equipo	21
6.3 Variables	21
6.4 Hipótesis	22
6.5 Procedimiento	22
6.6 Resultados	26
7. Discusión de resultados	102
8. Conclusiones	106
9. Referencias	107

1. Introducción

La estabilidad en uso tiene como objetivo aportar información en el marbete sobre las condiciones de almacenamiento y vida útil propuesta de un medicamento que ha sido abierto y administrado por primera vez con el fin de asegurar que cumpla con las especificaciones.

En el presente estudio se evaluará la estabilidad en uso del principio activo metotrexato en solución inyectable tomando como base la guía de la ICH Q1A (R2) Estudios de estabilidad para nuevos fármacos y productos, la guía de la EMA CPMP/QWP/2934/99, guía de estudios de estabilidad en uso de productos medicinales para humanos y la NOM-073-SSA1-2015 estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios. Esto se llevará a cabo con muestras preparadas de solución de metotrexato de la marca Traxacord fabricante Accord, solución glucosada al 5 % y Bicarbonato de sodio 7.5% inyectable, en donde se va a evaluar la estabilidad en uso de la solución de metotrexato en bolsas de venoclisis expuestas a la luz mediante la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).

2. Marco Teórico

2.1 Metotrexato

2.1.1 Historia del metotrexato

El metotrexato se describió como medicamento en 1946 y fue usado por primera vez en el tratamiento de una enfermedad humana en 1948 ¹. Fue empleado por primera vez por el doctor Sidney Farber en el Hospital Infantil de Boston con un grupo de niños que presentaban la enfermedad de leucemia, gracias a eso se demostró su eficacia en esta enfermedad revolucionando el campo oncológico. Fue aprobado en 1988 para uso en adultos para tratar la artritis reumatoide por la FDA y se utilizó por más de 25 años en el tratamiento de esta enfermedad, hoy en día se considera como un fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FAME) de primera elección, y de gran beneficio en el control de otras enfermedades reumáticas ².

El metotrexato es un antagonista del ácido fólico que actúa inhibiendo competitivamente la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR), la cual participa en la formación del ácido folínico que es necesario para la formación del nucleósido timidina, requerido para la síntesis de ADN, ARN, timidilatos y proteínas ³. Fue usado como agente quimioterápico en las neoplasias hematológicas (como leucemias). Luego empezó a utilizarse debido a sus buenos resultados por su efecto inmunomodulador y antiinflamatorio en el tratamiento de la psoriasis, la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal ¹.

El metotrexato ha sido el agente terapéutico más utilizado en la modificación del curso de enfermedades inflamatorias crónicas, como lo son articulares e intestinales en los últimos 20 años. Las vías de administración utilizadas son la oral, subcutánea (tiene mayor disponibilidad y eficacia) y la intramuscular, actualmente en desuso. Las guías de práctica clínica muestran preferencia por la vía oral, aunque se puede cambiar a subcutánea en casos de respuesta inadecuada o intolerancia ^{1,2}.

2.1.2 Propiedades ^{4,5,7}

Apariencia: Polvo cristalino marrón-anaranjado

Peso molecular: 454.46 g/mol

Log p: -1.85

Constantes de disociación: pKa = 4.70 (ácido carboxílico); pKa = 3,5 (ácido carboxílico); pKa2 = 8,8, pKa3 = 9,2 (amina) /Estimado

Se comporta como un ácido débil

Solubilidad: Insoluble en agua, alcohol, cloroformo, éter; ligeramente soluble en ácido clorhídrico diluido; soluble en soluciones diluidas de hidróxidos y carbonatos alcalinos.

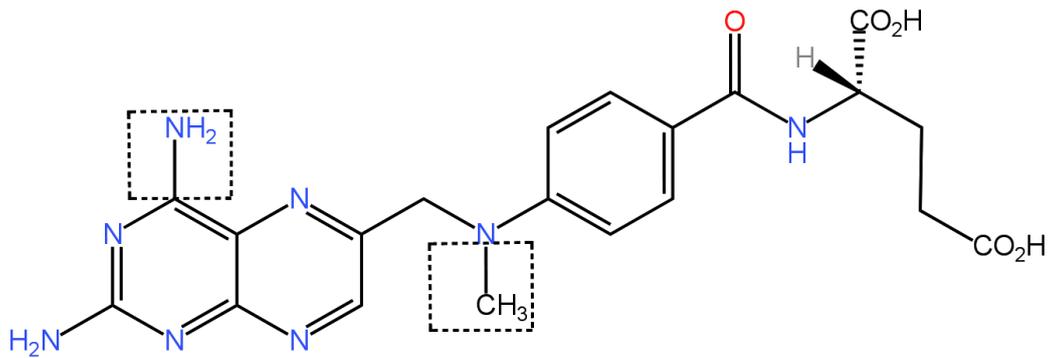


Figura 1. Fórmula del metotrexato

El metotrexato cuenta con un grupo amino (-NH₂) en el núcleo de pteridina, grupo metilo (-CH₃) sobre los nitrógenos amínicos de los grupos pterilo y benzoilo. Esto permite que el metotrexato tenga mayor afinidad que el ácido fólico por la dihidrofolato reductasa.

Espectroscopía ultravioleta: UV máx. (HCl 0,1 N) 244, 307 nm; UV máx. (0,1 N NaOH) 257, 302, 370 nm

Productos de degradación ⁹

El metotrexato tiene cuatro productos de degradación los cuales llevan por nombre químico:

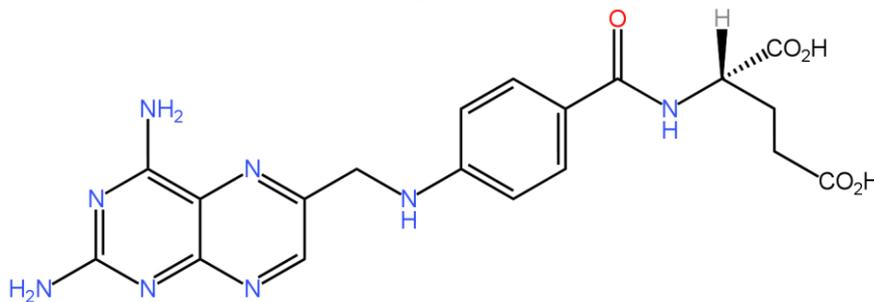


Figura 2. Ácido (2S)-2-[[4-[(2,4-diaminopteridin-6-il)metil]amino]benzoil]amino]pentanodioico

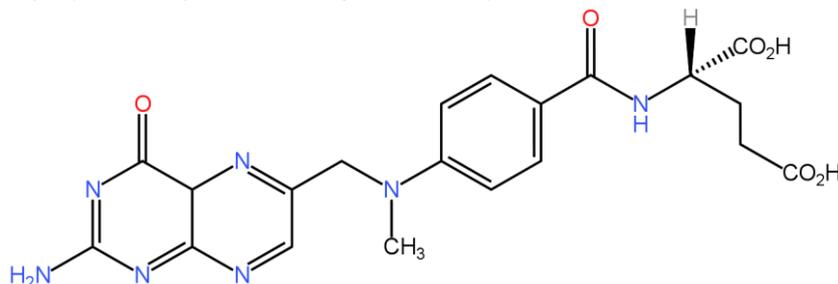


Figura 3. Ácido (2S)-2-[[4-[(2-amino-4-oxo-1,4-dihidropteridin-6-il)metil]metilamino]benzoil]amino]pentanodioico

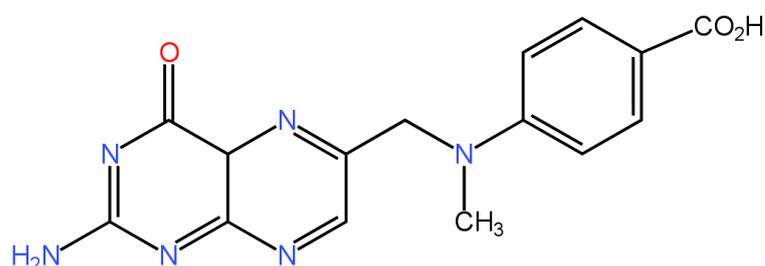


Figura 4. Ácido 4-[[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihidropteridin-6-il)metil]metilamino]benzoico

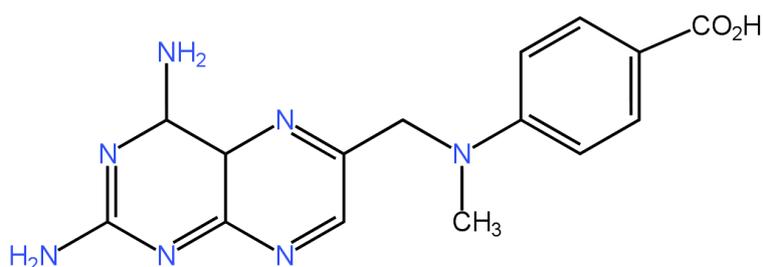


Figura 5. Ácido 4-[[[(2,4-diaminopteridin-6-il)metil]metilamino]benzoico.

2.1.3 Propiedades farmacocinéticas

- Absorción

El metotrexato puede ser administrado por vía oral, subcutánea, intramuscular e intravenosa ⁶. Al ser administrado por vía oral, este se absorbe en el tracto gastrointestinal, específicamente en el yeyuno proximal. La concentración plasmática del fármaco es mayor a las 1-2 h ⁷.

- Distribución

Cerca del 50% de metotrexato se encuentra unido a proteínas plasmáticas. Este se distribuye ampliamente en los tejidos corporales y alcanza concentraciones máximas en riñón, vesícula biliar, bazo, hígado y piel ⁷.

- Metabolismo

El Metotrexato se metaboliza en un 10% en el hígado o entre un 5-7% de acuerdo a diferentes autores, el principal metabolito es 7-hidroximetotrexato, una molécula activa que ayuda a prolongar su efecto terapéutico ⁷. La vida media es alrededor de 3 a 10 horas para pacientes en tratamiento con bajas dosis y para pacientes sometidos a altas dosis de metotrexato, la vida media es de 8 a 15 horas ⁶.

- Excreción

La excreción es producida por la vía renal mediante el proceso de filtración glomerular y la secreción es activada en el túbulo proximal. Alrededor del 5-20% de metotrexato y el 1-5% de 7-hidroximetotrexato se eliminan por vía biliar ⁷.

2.1.4 Estabilidad del Metotrexato

El metotrexato es perceptible a reacciones de hidrólisis, oxidación y la luz.⁸ Se han publicado numerosos estudios de estabilidad del metotrexato en los cuales se reducen a evaluaciones comparativas entre concentraciones bajas de metotrexato; por lo tanto, los datos obtenidos no representan con precisión que tan estable es el fármaco en soluciones más concentradas. En el siguiente cuadro observamos una recopilación de artículos que tratan la estabilidad que presenta el fármaco en diferentes condiciones.

Cuadro 1. Recopilación de artículos sobre el metotrexato

Título	Técnica analítica y Condiciones	Método	Conclusión	Referencia
Stability study of methotrexate in 0.9% sodium chloride injection and 5% dextrose injection with limit tests for impurities. ⁹	HPLC con detector UV-VIS a 302 nm, columna C18 fase reversa a 35°C. Fase buffer citrato-fosfato y acetonitrilo (93:7) móvil: Flujo: 0.7 mL/min Volumen de inyección: 12 µL	La solución concentrada de metotrexato (100 mg/ml) se diluyó a concentraciones nominales de 0,2 y 20 mg/ml en bolsas de infusión que contenían cloruro de sodio al 0,9 % o dextrosa al 5 %. Las bolsas llenas se almacenaron durante 28 días a 25 °C y 60 % HR y protegidas de la luz. Se tomaron muestras para análisis desde el día de preparación y también después de 3, 7, 14, 21 y 28 días. El programa de prueba incluyó inspecciones visuales, mediciones de pH y pérdida de peso de la bolsa de infusión, y se determinó el contenido de metotrexato y se caracterizaron los productos de degradación mediante HPLC.	En concentraciones de 0,2 y 20 mg/mL, se encontró que el metotrexato preparado con inyección de cloruro de sodio al 0,9% era estable durante 28 días cuando se almacenaba a 25 °C y se protegía de la luz. En las mismas condiciones de almacenamiento, el metotrexato en una solución de 20 mg/mL preparada con inyección de dextrosa al 5 % fue estable durante 28 días, mientras que una solución de 0,2 mg/mL en el mismo diluyente fue estable solo durante 3 días.	Nissen KB, Jorgensen LB, Berg DL, Andersen G. Stability study of methotrexate in 0.9% sodium chloride injection and 5% dextrose injection with limit tests for impurities. Am J Health Syst Pharm [Internet]. 2017 [consultado el 28 de julio de 2022]; 74(9):e211-e223. Disponible en: https://doi.org/10.2146/ajhp150818
Stability of extemporaneous and prepared cytarabine, methotrexate sodium, and methylprednisolone sodium succinate. ¹⁰	HPLC equipado con un sistema de separación y detector de matriz de fotodiodos, columna fase reversa 25-35°C Fase móvil: 0.1% ácido acético glacial en agua y ácido	Se prepararon soluciones intratecales (11,94 ml de 2 mg/ml de succinato de sodio de metilprednisolona en cloruro de sodio al 0,9 % en un vial marrón estéril. Posteriormente, 38,22 mL de metotrexato 2,5 mg/mL -como sal de sodio- y 11,94 mL de solución de citarabina 20 mg/mL) y se utilizaron tres tipos de empaques (jeringa de	La solución intratecal triple de citarabina, metotrexato sódico y succinato sódico de metilprednisolona fue estable hasta 12 horas cuando se almacenó a 5 °C y se protegió de la luz.	D'Hondt M, Vangheluwe E, Van Dorpe S, et. al. Stability of extemporaneously prepared cytarabine, methotrexate sodium, and methylprednisolone sodium succinate. Am J Health Syst Pharm [Internet]. 2012

	acético glacial 0.1% en acetonitrilo. 280 nm	plástico, viales de vidrio marrón y viales de vidrio marrón llenos con agujas de metal). Las soluciones se protegieron de la luz y fueron almacenados a 5, 25 y 40 °C o expuesto a la luz ultravioleta y visible a 25°C, durante 4 h, 8 h, 24 h, 32 h y 48 h		[consultado 28 de julio de 2022]; 69(3):232-40. Disponible en: https://doi.org/10.2146/ajhp110208
Study of stability of methotrexate in acidic solution Spectrofluorimetric determination of methotrexate in pharmaceutical preparations through acid-catalyzed degradation reaction. ¹¹	Medidor de espectrofluoruro Perkin-Elmer 650-10S, equipado con una celda de cuarzo de 1 cm, una lámpara de arco de xenón de 150 W, monocromadores de rejilla de excitación y emisión y un registrador Perkin-Elmer modelo 56.	Se prepararon soluciones estándar de metotrexato, soluciones muestra de tabletas de metotrexato, solución de acetyl acetona-formaldehído y solución de fluorescamina. Se realizó un ensayo para la reacción de degradación ácida: Se mezclaron alícuotas de solución estándar con 1 mL de ac. sulfúrico 0.5 M en tubos y se sometieron a baño maría durante 75 min, una vez que llegaron a temperatura ambiente se llevaron a volumen con acetonitrilo y se midieron las longitudes de onda	La secuencia de tasa de degradación de MTX mostró el efecto de la fuerza del ácido sulfúrico-tiempo de reacción. Se siguió la fluorescencia de las soluciones (cada una a 3 µg ml ⁻¹ MTX) sobre la concentración del ácido sulfúrico. La estabilidad de los productos de reacción (reacción de degradación, reacción de Hantzsch y reacción de fluorescamina) indican que las mediciones de fluorescencia (intervalo de 15 min) no mostraron variación durante al menos 2 h.	Sabry SM, Abdel-Hady M, Elsayed M, Fahmy OT, Maher HM. Study of stability of methotrexate in acidic solution spectrofluorimetric determination of methotrexate in pharmaceutical preparations through acid-catalyzed degradation reaction. J Pharm Biomed Anal [Internet]. 2003 [consultado el 28 de julio de 2022]; 32(3):409-23. Disponible en: https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00239-5
Design and stability study of a paediatric oral solution of methotrexate 2 mg/ml. ¹²	HPLC Detector matriz de diodos a 190 y 700 nm. Fase móvil: Solución buffer de dihidrogenofosfato	La solución de MTX se envasó en botella de vidrio ámbar tipo I de 30 ml, durante 120 días, por triplicado. El almacenamiento se realizó en cámara climática calificada según	Después de 120 días de almacenamiento, el pH se mantuvo estable en alrededor de 8 en todas las formulaciones. De acuerdo a la estabilidad del fármaco el contenido de MTX en la	Vrignaud S, Briot T, Launay A, Kempf M, Lagarce F. Design and stability study of a paediatric oral solution of methotrexate 2 mg/ml. Int J

	<p>de sodio a pH 6,6 y acetonitrilo (90:10 v:v) Flujo: 1 mL/min Columna C18 ODS Hypersil (250 mm x 4,6 mm a 20°C Volumen de inyección: 10 µl Tiempo de análisis: 10 min Detección y cuantificación a 302 nm</p>	<p>ICH a 4°C y 25°C bajo 60% de humedad relativa. La solución de MTX se incubó con ácido sulfúrico 0,5 M durante 60 min a 70 °C (n=3). Se realizó la validación del método. Se evaluaron el olor, la apariencia y el color de la preparación. Debido a las propiedades tóxicas intrínsecas de la solución de MTX, no se estudiaron el sabor ni la palatabilidad.</p>	<p>formulación de la solución se mantuvo en las especificaciones del 10 % de la concentración inicial durante todo el estudio cuando se almacenó a 4 y 25 °C durante 120 días</p>	<p>Pharm [Internet]. 2015 [consultado 28 de julio de 2022]; 487(1-2):270-3. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.04.016</p>
<p>Photodegradation of methotrexate in aqueous solution: degradation kinetics and identification of transformation products.¹³</p>	<p>HPLC-UV a 305 nm. Columna C18 150 x 3 mm Flujo: 0.5 ml/min Detector UV 230-305 nm UHPLC-MS/MS</p>	<p>La fotodegradación bajo dos condiciones de irradiación, donde el objetivo debe ser representativo del medio ambiente (300-450 nm) y el tratamiento de agua potable (254 nm). Los experimentos de fotodegradación se realizaron a dos pH, para variar el estado de ionización del metotrexato y producir una gran variedad de productos de transformación (TP). Las cinéticas de degradación determinadas a través del monitoreo LC-UV se contrastaron según el pH y la longitud de onda de irradiación. Los TP formados durante las</p>	<p>Los productos de fotodegradación encontrados derivan de la N-desmetilación, la oxidación del ácido glutámico y la escisión de C-N, lo que conduce a fotoproductos más degradados que presentan una parte de ácido glutámico modificada o pérdida. La evaluación de la citotoxicidad en las células cancerosas A549 demostró que todos los fotoproductos formados a pH 7 eran menos tóxicos que el compuesto original.</p>	<p>Espinosa A, Nélieu S, Lieben P, et. al. Photodegradation of methotrexate in aqueous solution: degradation kinetics and identification of transformation products. Environ Sci Pollut Res Int [Internet]. 2022 [consultado el 11 de agosto de 2022]; 29(4):6060-6071. Disponible en: https://doi.org/10.1007/s11356-021-15820-3</p>

		reacciones se identificaron mediante UHPLC-MS/MS.		
Kinetics of degradation of methotrexate in aqueous solution. ¹⁴	HPLC con detector operando a 254 nm, columna 120 mm x 4.5 mm empacada con nucleosil 5 C8. Fase móvil buffer de fosfatos pH 6.7 0.1 M-Metanol (8:2). Flujo 2 mL/min	Se utilizaron las siguientes soluciones tampón: pH <2,4 ácido clorhídrico; pH 2,4-3,7 fosfato; pH 3,8-5,8 acetato; pH 6,0-7,5 fosfato; pH 8,0-9,5 borato; pH 9,6-11,0 carbonato; y pH > 11 hidróxido de sodio. La concentración de iones en la solución se ajustó a 0.5 usando cloruro de potasio. Se preparó ácido N10-metil-fólico (producto de degradación) Las soluciones tampón acuosas con una concentración de metotrexato de aproximadamente 2 x 10 ⁻³ M se mantuvieron en tubos de ensayo con tapa roscada en un baño de aceite termostático a 85 ± 0,5°C. Se tomaron muestras a intervalos apropiados y se analizaron. La degradación del metotrexato se estudió en el rango de pH de 0-12 a 85°C y fuerza iónica de 0,5.	La investigación de la cinética de degradación tuvo lugar en soluciones tampón acuosas a 85°C en el rango de pH de 0-12. El perfil de tasa de pH obtenido a partir de gráficos cinéticos de primer orden mostró la máxima estabilidad a aproximadamente pH 7. A un pH y una temperatura constantes, la pérdida total de metotrexato mostró un comportamiento cinético de primer orden durante más de 3 semividas. A pH por encima de 6,5, el único producto de degradación observado fue ácido N10-metil-fólico que se formó con un rendimiento cuantitativo.	Hansen J. Kinetics of degradation of methotrexate in aqueous solution. International Journal of Pharmaceutics [Internet]. 1983 [consultado 11 de agosto de 2022]; 16(2):141-152. Disponible en: https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90051-0
Evaluation of osmolality and pH of various concentrations of methotrexate, cytarabine, and thiotepa prepared in		El pH y la osmolaridad fueron evaluados para metotrexato (1, 2, 5 y 10 mg/mL) en en solución salina normal, agua estéril para inyección (SWFI), y solución de Ringer lactato a temperatura ambiente dentro de 1 h después de la preparación.	La elección del diluyente orango de las concentraciones del fármaco no cambió significativamente el pH y la osmolaridad de las soluciones de metotrexato.	Lemos ML, Monfared S, Denyssevych T, et. al. Evaluation of osmolality and pH of various concentrations of methotrexate, cytarabine, and thiotepa prepared in normal saline, sterile water

normal saline, sterile water for injection, and lactated Ringer's solution for intrathecal administration. ¹⁵				for injection, and lactated Ringer's solution for intrathecal administration. J Oncol Pharm Pract [Internet]. 2009 [consultado 11 de agosto de 2022]; 15(1):45-52. Disponible en: https://doi.org/10.1177/1078155208096902
--	--	--	--	---

2.2 Estabilidad

La estabilidad se refiere a la aptitud de un medicamento, un fármaco o un remedio herbolario dentro de un envase y cierre específico, para conservar las características de calidad establecidas a lo largo del tiempo de almacenamiento y aplicación.

2.2.1 Medicamento nuevo

Es imprescindible llevar a cabo pruebas de estabilidad en al menos tres lotes de producción o lotes piloto del medicamento, los cuales deben haberse producido en una instalación de desarrollo o producción. Estos lotes deben haberse fabricado con la misma fórmula empleada en los estudios clínicos de fase III, tanto en términos cualitativos como cuantitativos. Asimismo, deben haberse manufacturado utilizando un método de fabricación que imite el proceso que se usará en la producción de los lotes comerciales. De manera general se debe aplicar el siguiente esquema:

Cuadro 2. Esquema general sobre la duración y condiciones de estudio utilizadas para medicamentos nuevos.¹⁶

Clase de estudio	Criterios de almacenamiento	Duración mínima (meses)	Periodicidad de análisis (meses)
Estabilidad acelerada	40°C ± 2°C/ 75% ± 5% HR	6	0, 3 y 6
Estabilidad a condición intermedia	30°C ± 2°C/ 65% ± 5% HR	6	0, 3 y 6
Estabilidad a largo plazo	25°C ± 2°C/ 60% ± 5% HR o 30°C ± 2°C/ 65% ± 5% HR	12	0, 3, 6, 9 y 12

2.2.2 Medicamento genérico, conocido y remedio herbolario

Se deben realizar estudios de estabilidad en al menos tres lotes de la etapa de producción; o bien pueden ser lotes de prueba ya sea de medicamento o de remedio herbolario, producido con una fórmula cualitativamente y cuantitativamente igual, la cual es empleada en estudios de intercambiabilidad de medicamentos genéricos, y un método de producción que simula el proceso de producción de lotes de producción destinados a la comercialización. De manera general se debe aplicar el siguiente esquema:¹⁶

Cuadro 3. Esquema general sobre la duración y criterios de almacenamiento de para medicamentos conocidos o genéricos y remedios herbolarios.¹⁶

Clase de estudio	Criterios de almacenamiento	Duración mínima (meses)	Periodicidad de análisis (meses)
Estabilidad	40°C ± 2°C/ 75% ± 5%	6	0, 3 y 6

acelerada	HR		
Estabilidad a condición intermedia	30°C± 2°C/ 65%± 5% HR	6	0, 3 y 6
Estabilidad a largo plazo	25°C± 2°C/ 60%± 5% HR o 30°C± 2°C/ 65%± 5% HR	12	0, 3, 6, 9 y 12

El diseño de estudios formales sobre la estabilidad de fármacos se basa en el conocimiento de las propiedades del principio activo, la experiencia obtenida de estos estudios y de los estudios de formulación clínica. Se deben informar los cambios probables en el almacenamiento y se debe justificar la elección de las propiedades que se probarán en estudios formales de estabilidad.¹⁷

2.3 Fotoestabilidad

La guía ICH Q1B establece que las propiedades de fotoestabilidad de nuevos principios activos y fármacos deben evaluarse para demostrar que la exposición a la luz no produce cambios inaceptables. En estudios de fotoestabilidad es primordial el desarrollo de nuevos fármacos, porque pueden utilizarse para desarrollar estrategias iniciales que aborden este problema ya sea cambiando la estructura molecular del fármaco o mediante procesos de fotoprotección.

En estudios confirmatorios las muestras deben compararse con luz que produzca al menos 1,2 millones de lux por hora y energía casi ultravioleta integrada de al menos 200 vatios por metro cuadrado, donde se haga la comparación directa entre la sustancia y el producto.

En la guía se menciona que las muestras deben ser expuestas a las siguientes fuentes de radiación durante las pruebas de fotoestabilidad:

- Opción 1. Lámpara de luz artificial fluorescente o lámpara de arco de xenón o lámparas de halógenos metálicos.
- Opción 2. Lámpara fluorescente blanca fría y la lámpara fluorescente UV cercana.

Las muestras se pueden exponer en paralelo con un sistema actinométrico químico validado para garantizar la exposición a la luz especificada, o durante un período de tiempo apropiado después de monitorear las condiciones con radiómetros/luxómetros calibrados. Si se utilizan muestras protegidas (por ejemplo, envueltas en papel de aluminio) como controles oscuros para evaluar la contribución de los cambios inducidos por el calor al cambio total observado, deben colocarse junto a la muestra auténtica.

Por lo general, los estudios de medicamentos deben realizarse de forma secuencial, comenzando con la prueba del producto completamente expuesto y luego avanzando, si es necesario, al producto en el empaque inmediato y luego al empaque minorista. Las pruebas deben continuar hasta que los resultados muestren que el producto está adecuadamente protegido de la luz. Para algunos productos cuyo embalaje inmediato ha demostrado ser completamente opaco (por ejemplo, tubos o latas de aluminio), las pruebas generalmente sólo deben realizarse en el producto que está en contacto directo.¹⁸

2.4 Estabilidad en uso

Los medicamentos utilizados en dosis múltiples, disueltos o diluidos, se deben someter a estudios sobre el aprovechamiento de la estabilidad, cuyo objetivo es determinar el período durante el cual el medicamento mantiene sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas y mantiene su seguridad, eficacia y eficiencia.

Los documentos de registro de productos de dosis múltiples deben incluir los datos de estabilidad en uso en los que se basa la vida útil en uso o una justificación de por qué no se establece la vida útil en uso. Esta justificación también puede basarse en resultados experimentales.¹⁹

- Diseño de prueba

La prueba debe diseñarse para simular el uso del producto en la práctica, teniendo en cuenta el volumen de llenado del recipiente y cualquier dilución/reconstitución antes del uso. El muestreo debe realizarse en condiciones ambientales normales de uso. Las propiedades físicoquímicas y microbianas relevantes del producto, que probablemente cambien durante el almacenamiento, deben determinarse durante el ciclo de vida previsto. Se debe probar la cantidad promedio y final de producto en el paquete al final de la vida útil prevista.¹⁹

- Condiciones de almacenamiento de prueba

El producto debe almacenarse en las condiciones recomendadas en la documentación del producto durante todo el período de prueba que fue sometido a la estabilidad en uso.

- Parámetros de prueba

Deben controlarse las correspondientes propiedades físicas, químicas y microbianas del producto, que pueden cambiar durante su uso. Las pruebas utilizadas deben ser adecuadas para formas farmacéuticas individuales. Los siguientes son los tipos de parámetros que pueden necesitar ser estudiados:

- Físicos: color, claridad, integridad del cierre, material particulado, tamaño de partícula
- Químicos: principio activo, conservante antimicrobiano y nivel(es) de producto de degradación antioxidante, pH.
- Microbianos: Recuento viable total, esterilidad.

- Procedimientos analíticos

Los procedimientos analíticos utilizados en el estudio deben describirse y validarse en su totalidad. Deben emplearse ensayos que indiquen la estabilidad.¹⁹

- Etiquetado del envase primario

La vida útil en uso debe indicarse en la etiqueta. Además (si el espacio lo permite) debe haber un espacio para que el usuario escriba la fecha de apertura o caducidad.

Una vez que un medicamento se abre por primera vez, la fecha en que caduca ya no es considerada como referencia de la calidad del producto, ya que diferentes variables podrían modificar la estabilidad, como:

- Químicos:
 - Reacciones de oxidación

- Reducción
 - Hidrólisis
 - Racemización
 - Descarboxilación
 - Polimerización
- Físicos:
- Fotólisis
 - Aglomeración
 - Microbiológicos.

Los datos de estabilidad resultan contradictorios o insuficientes, debido a que en la industria farmacéutica por lo regular no se extienden los estudios de estabilidad después de que el medicamento sale a la venta. De ahí la importancia de conocer la estabilidad en uso del medicamento. ²⁵

Existen algunos estudios de estabilidad en uso para medicamentos, como es el caso de las gotas orales de paracetamol. Los autores de esta investigación, encontraron que la estabilidad a una temperatura inferior, protegido de la luz y manteniendo el frasco abierto todos los días por un espacio de 3 min, mantenía una estabilidad por un periodo de 30 días ²⁰. En el artículo de revisión sobre la estabilidad de medicamentos fotosensibles, menciona que no hay la existencia de estudios al respecto y cuando se dispone de estos suele citarse en su prospecto o ficha técnica, aunque no está indicado en el cartonaje. El objetivo de su estudio nos indica qué medicamentos requieren protegerse de la luz durante su almacenamiento y/o administración, y en caso de ser expuesto a la luz cuánto tiempo permanece estable ²¹. Ellos concluyen la importancia que tienen los estudios sobre la estabilidad con el fin de disponer de información más accesible y fiable. En el Hospital Universitario Infanta Leonor en 2013 se realizó un estudio para indicar la estabilidad que tienen los medicamentos utilizados en el ámbito clínico. El grupo de investigación realizó un estudio para los diferentes solventes utilizados en la dilución de los medicamentos indicando la estabilidad que tenían para cada mezcla, por lo cual se determinó el uso de varias marcas, para verificar la variabilidad que existe en la constitución de los plásticos. Por último, se sugiere que los estudios de estabilidad tengan como objetivo evaluar las situaciones que se pueden generar durante la práctica clínica: considerando las condiciones que se puedan dar durante periodos cortos de tiempo, y las condiciones a las que son expuestas durante el transporte ²².

3. Planteamiento del problema

El metotrexato es el agente terapéutico más utilizado en la modificación del curso de enfermedades inflamatorias crónicas, como articulares e intestinales en los últimos 20 años.¹ El objetivo de la estabilidad en uso de estos medicamentos tiene como propósito establecer un periodo de tiempo en el cual el producto farmacéutico permanece dentro de sus especificaciones físicas, químicas y microbiológicas y así asegurar al paciente la eficacia y calidad del producto.

A pesar de que existen numerosos estudios sobre la estabilidad de este fármaco sólo se encontró un estudio de estabilidad en uso de solución de metotrexato en bolsas de infusión. Actualmente no se ha encontrado más información bajo esta situación, por lo cuál es de suma importancia tener más estudios que abarquen este tema y demostrar en qué condiciones las bolsas de venoclisis con la solución de metotrexato seguirán siendo estables.

4. Pregunta de investigación

¿Al correr muestras de metotrexato expuestas a la luz por 6 h, contenidas en dos diferentes marcas de venoclisis, ninguna de ellas obtendrá señales de productos generados por la degradación?

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

-Determinar la estabilidad en uso en solución de metotrexato bajo condiciones de luz con el propósito de evaluar la presencia de productos por degradación.

5.2 Objetivos específicos

- Comparar los datos de concentración del metotrexato en muestras expuestas a la luz contra la solución estándar de Metotrexato para evaluar algún cambio.
- Comparar los cromatogramas del metotrexato en dos tipos de marcas diferentes de bolsas de venoclisis.

6. Método

6.1 Universo

Población de estudio: Marca de venoclisis Flebotek e Intrafix

Principio activo: Metotrexato

Forma farmacéutica: Solución inyectable

Concentración: 500 mg/5 mL

Marca: Traxacord

Fabricante o laboratorio: Accord Farma

6.2 Materiales y equipo

Reactivos

Acetonitrilo grado HPLC

Fosfato dibásico de potasio anhidro

Ácido cítrico

Hidróxido de Sodio 1 N

Material de uso

Bicarbonato de sodio inyectable

Metotrexato 500 mg/5 mL

Solución glucosada al 5%

Bolsas de venoclisis

Equipo

Balanza analítica

Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)

Baño de Ultrasonido

Bomba de vacío

Potenciómetro

Parrilla de agitación y calentamiento

Luxómetro

Material de laboratorio

Matraz volumétrico de 5 mL

Micropipeta

Bolsas de venoclisis

Espátula de acero inoxidable

6.3 Variables

Variables de estudio: luz y marcas de venoclisis

6.4 Hipótesis

Si somete las muestras preparadas de metotrexato a la luz, se esperaría que a las 6 horas se obtenga una señal en el mismo tiempo de retención que el estándar y el medicamento contenido en las diferentes bolsas de venoclisis.

6.5 Procedimiento

- *Condiciones del método analítico*²³

Método: HPLC

Detector: UV 302 nm

Columna C8: 4.6 mm x 150 mm; relleno de 5 µm

Velocidad de flujo: 1 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

Tiempo de corrida: 10 min

Aptitud del sistema

Muestra: Solución estándar de Metotrexato

Requisitos de aptitud

Factor de asimetría: Menor a 2.0

Desviación estándar relativa: Menor al 2.0%

- *Preparación de solución amortiguadora*

En una balanza analítica pesar aproximadamente 0.6845 g de fosfato dibásico de potasio anhidro y 0.4835 g de ác. cítrico disolverlo en 500 mL agua. Ajustar con hidróxido de sodio 1 N a un pH de 6.0.

- *Preparación de Fase móvil*

Con una probeta medir 445 mL (89%) de solución amortiguadora y 55 mL (11%) acetonitrilo. Colocar en un reservorio adecuado, filtrar y desgasificar por 5 minutos.

- *Preparación del STD*

Tomar una alícuota de 24 µL de metotrexato inyectable y pasar a un matraz aforado de 5 mL, aforar con fase móvil previamente preparada. Filtrar el estándar de Metotrexato con filtros de membrana PVDF 0.45 µm y desgasificar por 5 minutos.

Acondicionamiento del equipo. Purgar todas las líneas aproximadamente de 2 a 3 minutos, se procede a encender la lámpara, una vez realizado ese paso se lava el inyector 2 veces, enseguida se acondiciona la columna y se inicia la línea base aproximadamente 30 minutos

- **Estabilidad en uso**

Todas las muestras se deben exponer a la luz durante un periodo tiempo de 6 horas en las condiciones establecidas. En dos bolsas de perfusión para venoclisis se debe administrar 250 mL de glucosa al 5%, 8.75 meq de HCO₃ y 125 mg de Metotrexato las cuales se exponen a la luz durante 6 horas, los muestreos se deben realizar en los siguientes tiempos 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.25, 3.5, 3.75, 4.0, 4.25, 4.5, 4.75, 5.0, 5.25, 5.5, 5.75 y 6 h.

Filtrar todas las muestras obtenidas en los tiempos de muestreo establecidos con filtros de membrana PVDF 0.45 µm. Colocar cada una de las muestras en el automuestreador con las condiciones antes mencionadas.

Cuadro 4. Secuencia de las muestras

No. Vial	
1	Blanco
2	Solución preparada de Metotrexato (Solución STD MTX)
3	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 0.5 h (Venoclisis Flebotek)
4	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 0.5 h (Venoclisis Intrafix Primeline)
5	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 1 h (Venoclisis Flebotek)
6	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 1 h (Venoclisis Intrafix Primeline)
7	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 1.5 h (Venoclisis Flebotek)
8	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 1.5 h (Venoclisis Intrafix Primeline)
9	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 2 h (Venoclisis Flebotek)
10	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 2 h (Venoclisis Flebotek)
11	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 2.5 h (Venoclisis Flebotek)
12	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 2.5 h (Venoclisis Flebotek)
13	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3 h (Venoclisis Flebotek)
14	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3 h (Venoclisis Flebotek)
15	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.25 h (Venoclisis Flebotek)
16	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.25 h (Venoclisis Flebotek)
17	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.5 h (Venoclisis Flebotek)
18	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.5 h (Venoclisis Flebotek)

19	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.5 h (Venoclisis Flebotek)
20	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.75 h (Venoclisis Flebotek)
21	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 3.75 h (Venoclisis Flebotek)
22	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4 h (Venoclisis Flebotek)
23	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4 h (Venoclisis Flebotek)
24	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4.25 h (Venoclisis Flebotek)
25	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4.25 h (Venoclisis Flebotek)
26	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4.5 h (Venoclisis Flebotek)
27	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4.5 h (Venoclisis Flebotek)
28	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4.75 h (Venoclisis Flebotek)
29	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 4.75 h (Venoclisis Flebotek)
30	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5 h (Venoclisis Flebotek)
31	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5 h (Venoclisis Flebotek)
32	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5.25 h (Venoclisis Flebotek)
33	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5.25 h (Venoclisis Flebotek)
34	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5.5 h (Venoclisis Flebotek)
35	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5.5 h (Venoclisis Flebotek)
36	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5.75 h (Venoclisis Flebotek)
37	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 5.75 h (Venoclisis Flebotek)
38	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 6 h (Venoclisis Flebotek)

39	Solución preparada de Metotrexato expuesta a la luz por 6 h (Venoclisís Flebotek)
----	---

Una vez finalizada la corrida lavar la columna con las siguientes condiciones

Velocidad de flujo: 0.70

Volumen de inyección: 20 μ L.

Tiempo de corrida: 45 min.

Longitud de onda: 302 nm.

Cuadro 5. Lavado de la columna

Tiempo	A%	B% (Acetonitrilo)	C% (Agua)
0	0	10	90
10	0	10	90
11	0	30	70
21	0	30	70
22	0	50	50
32	0	50	50
33	0	70	30
45	0	70	30

Lavado de equipo: Se hace pasar un flujo de 0.2 mL/min de agua previamente calentada durante 20 min en donde se encuentra la línea de la fase móvil.

Prueba adicional: Colocar las muestras en el automuestreador con las siguientes condiciones: fase móvil de $K_2HPO_4/C_6H_7O_8$ pH 6.0: Acetonitrilo (89:11), λ a 259 nm, uso de una columna C8, tiempo de corrida de 10 min y volumen de inyección de 10 μ L.

6.6 Resultados

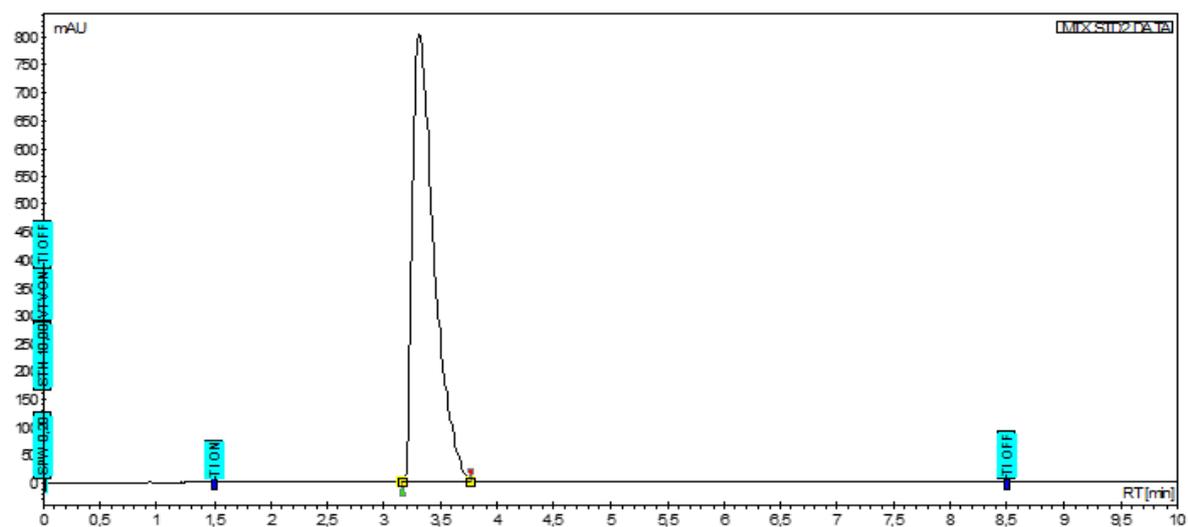


Figura 5 . Estándar de MTX

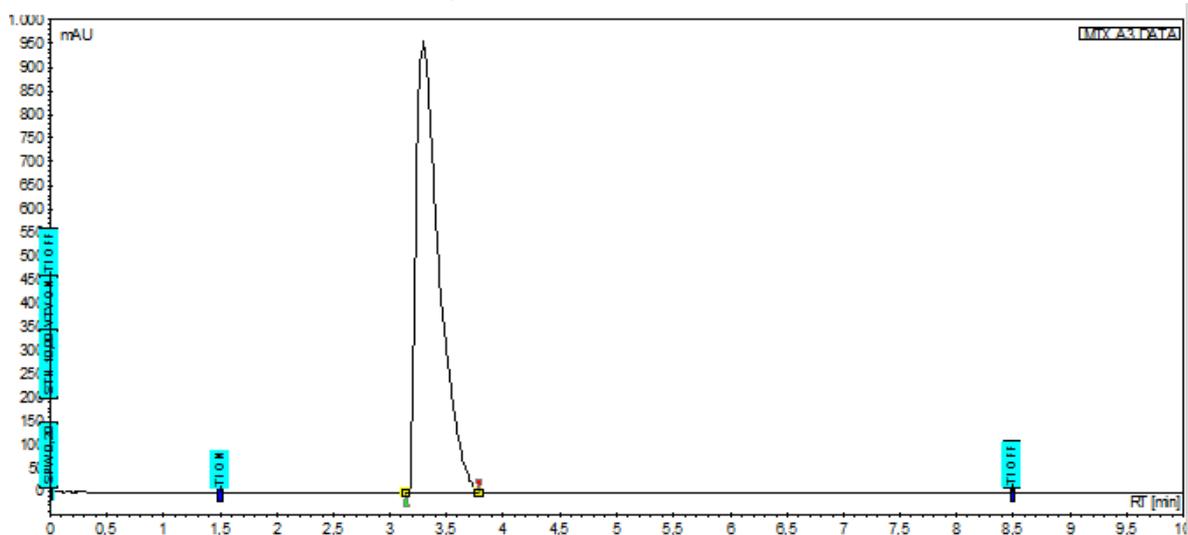


Figura 6. MTX bolsa Flebotek a 0.5 h

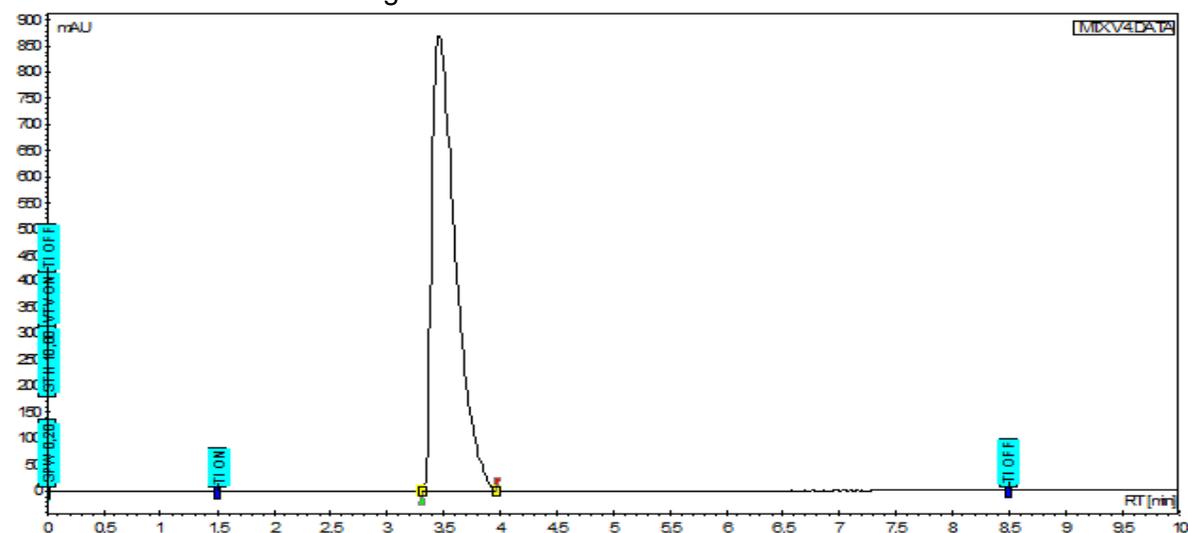


Figura 7. MTX bolsa Intrafix Primeline a 0.5 h

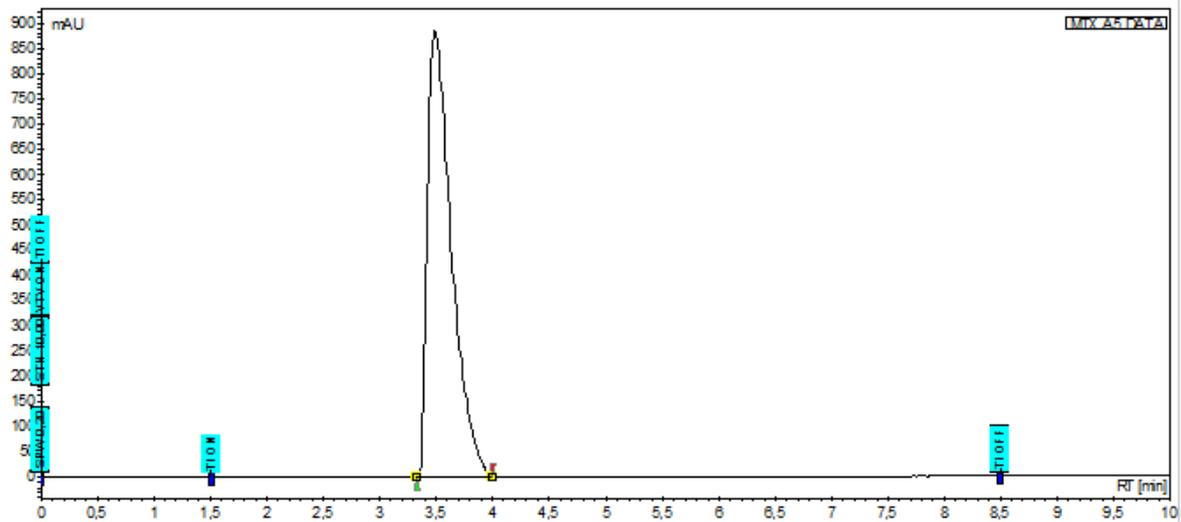


Figura 8. MTX Flebotek a 1 h

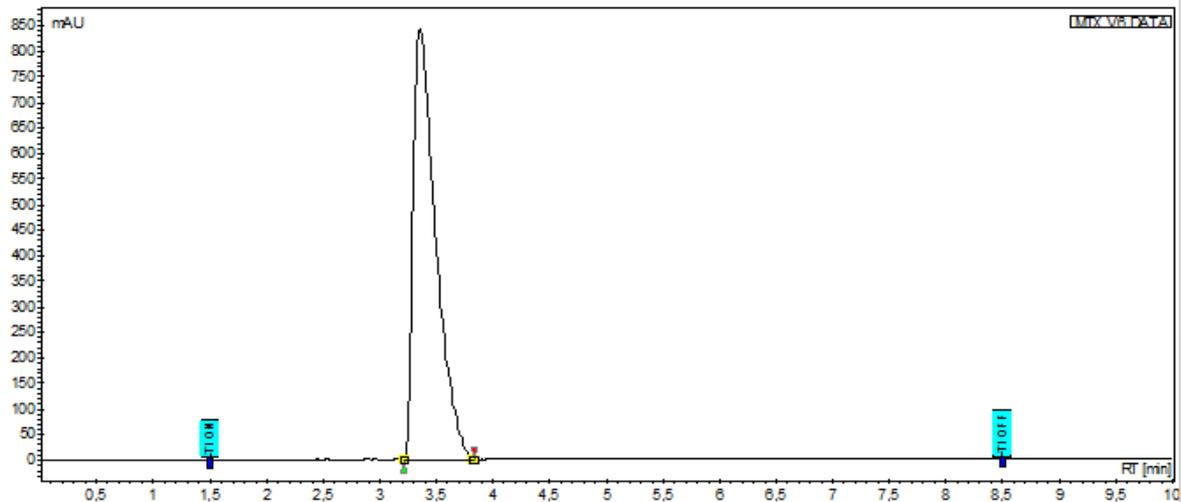


Figura 9. MTX bolsa Intrafix Primeline a 1 h

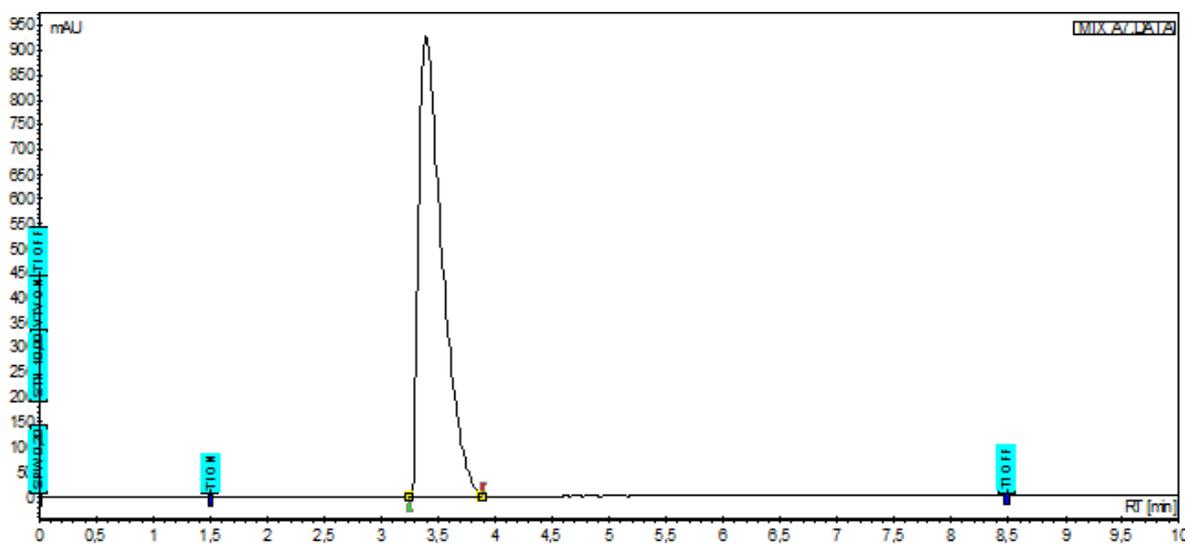


Figura 10. MTX bolsa Flebotek a 1.5 h

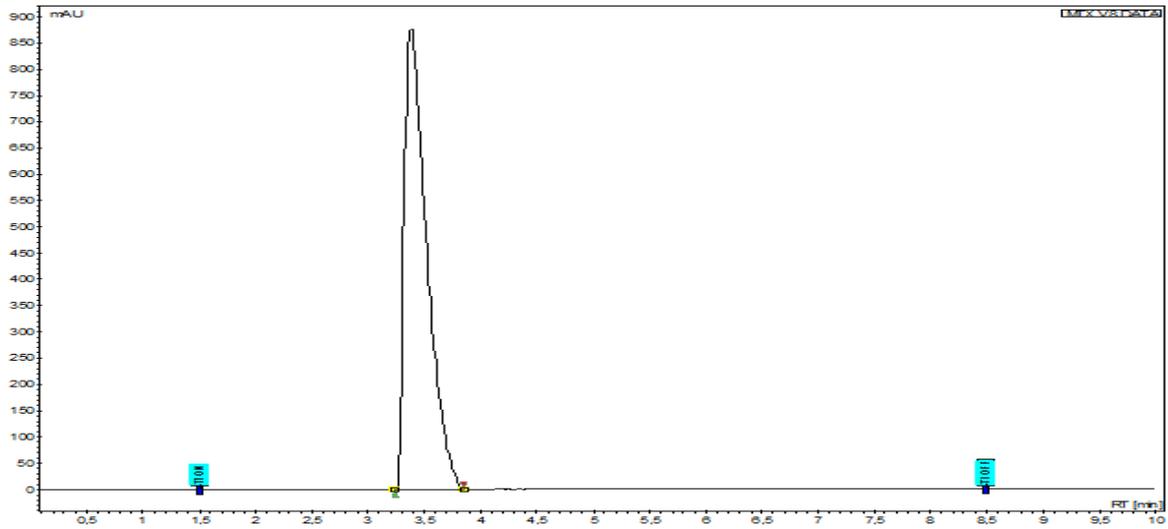


Figura 11. MTX bolsa Intrafix Primeline a 1.5 h

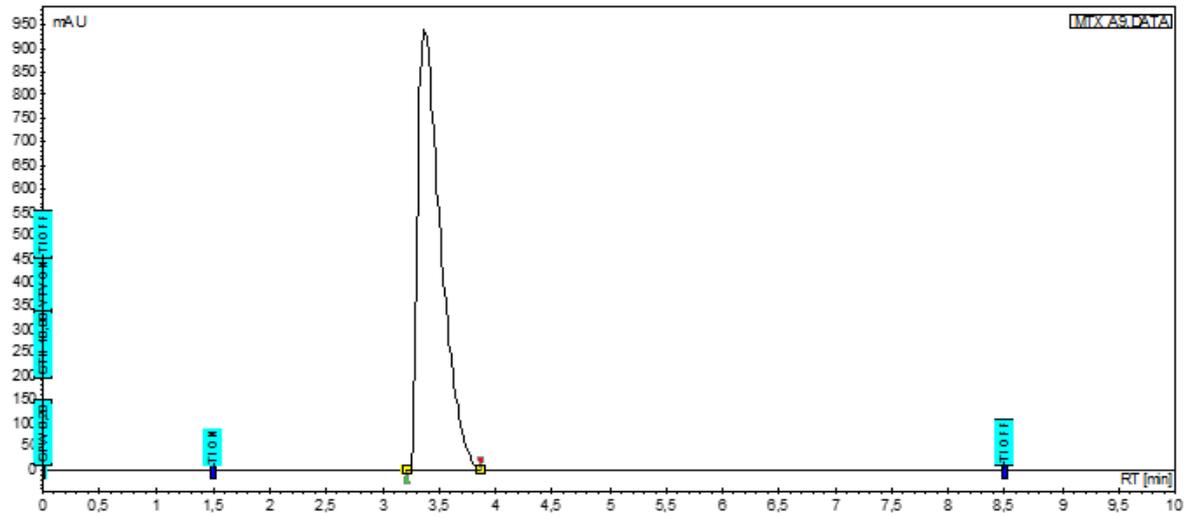


Figura 12. MTX bolsa Flebotek a 2 h

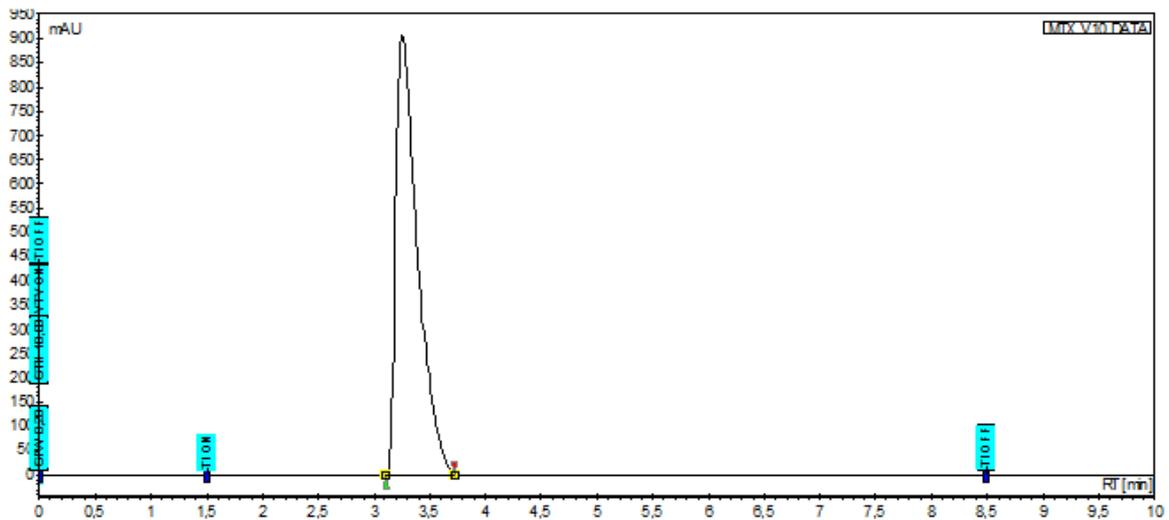


Figura 13. MTX bolsa Intrafix Primeline a 2 h

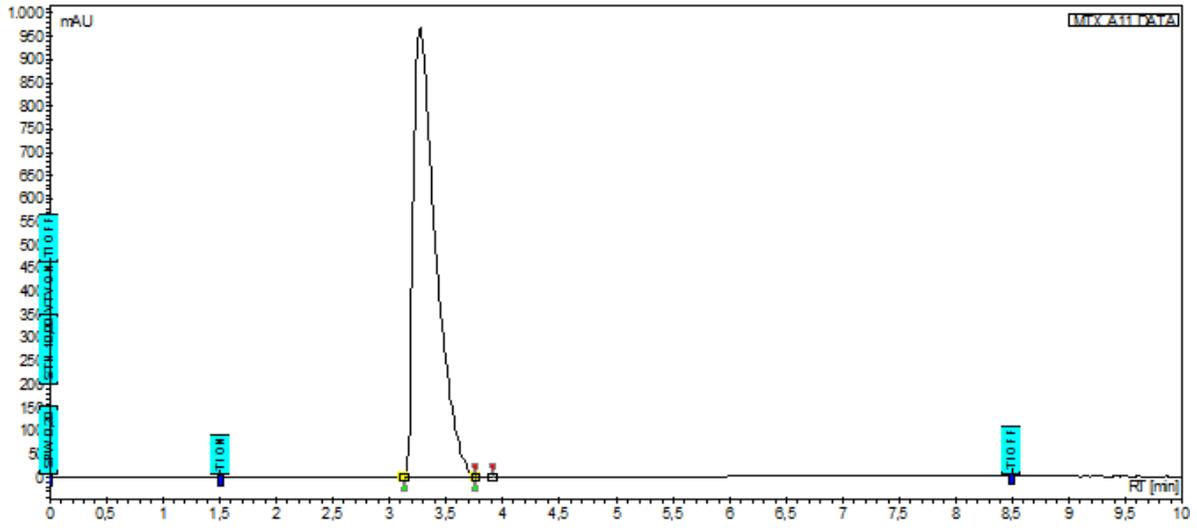


Figura 14. MTX bolsa Flebotek a 2.5 h

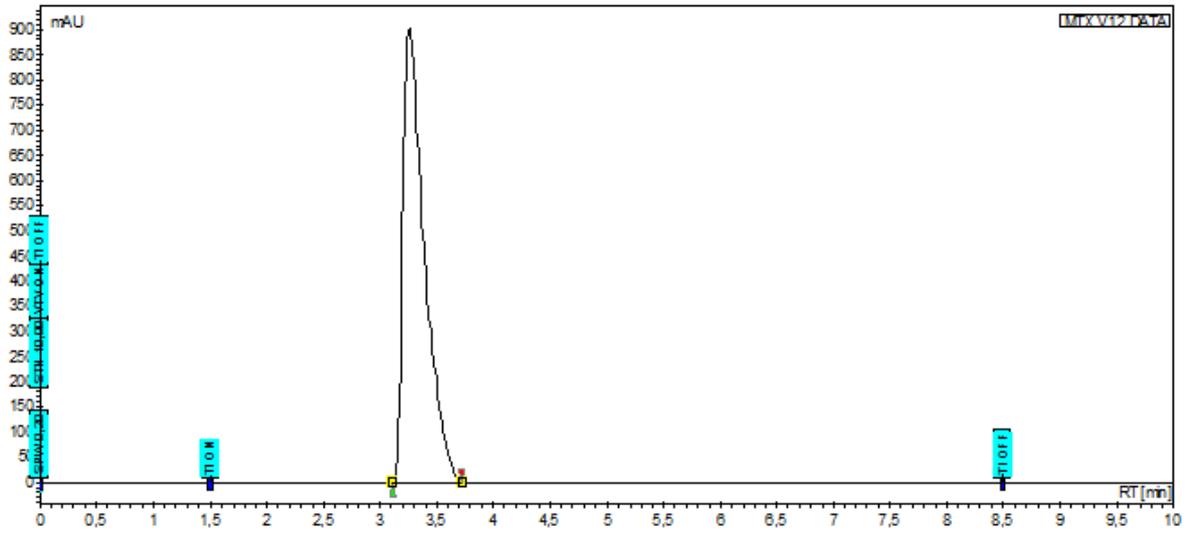


Figura 15. MTX Intrafix Primeline a 2.5

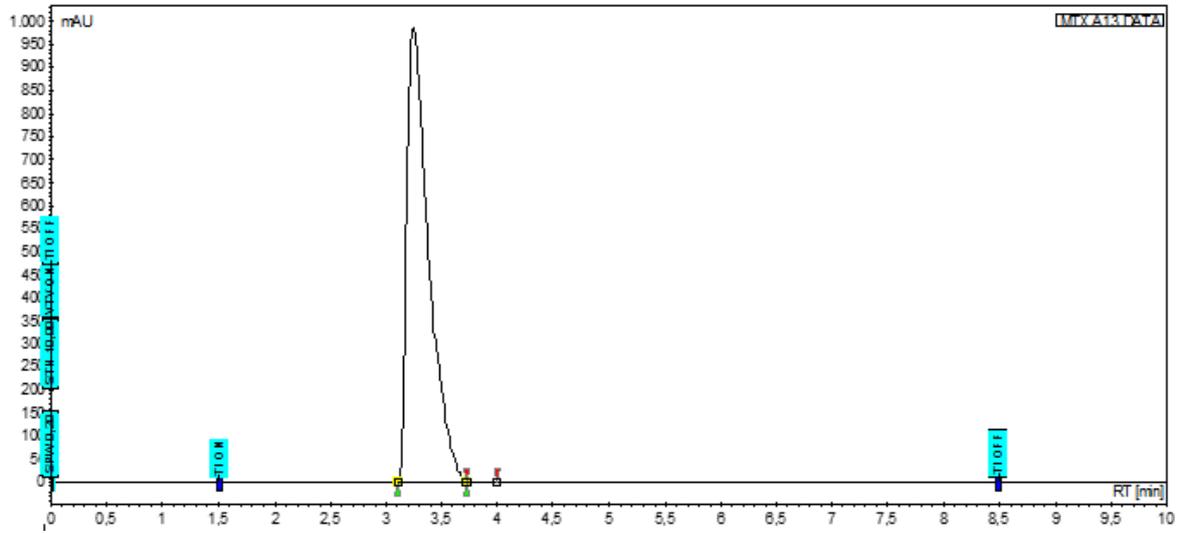


Figura 16. MTX Flebotek a 3 h

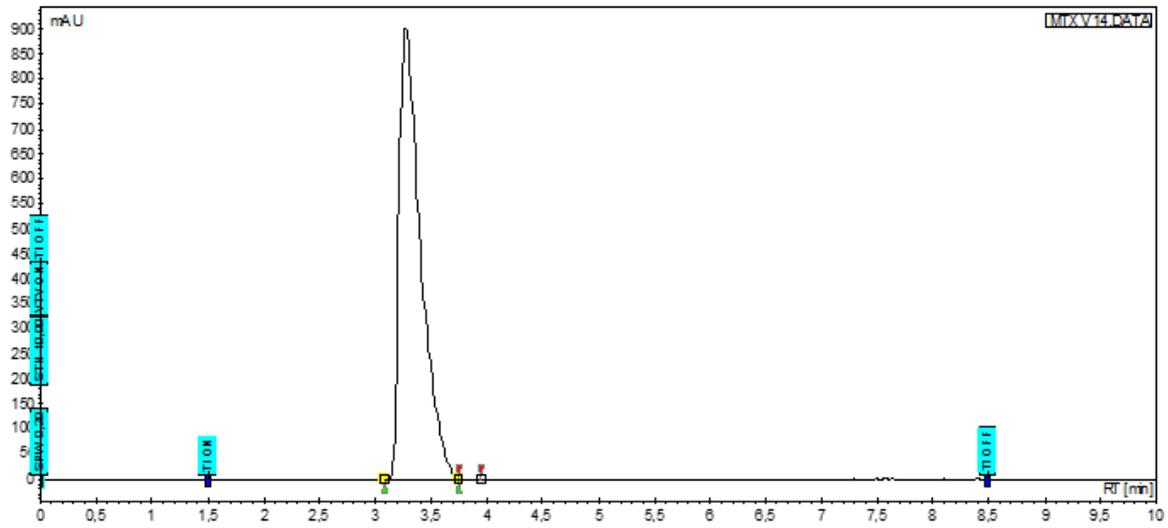


Figura 17. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3 h

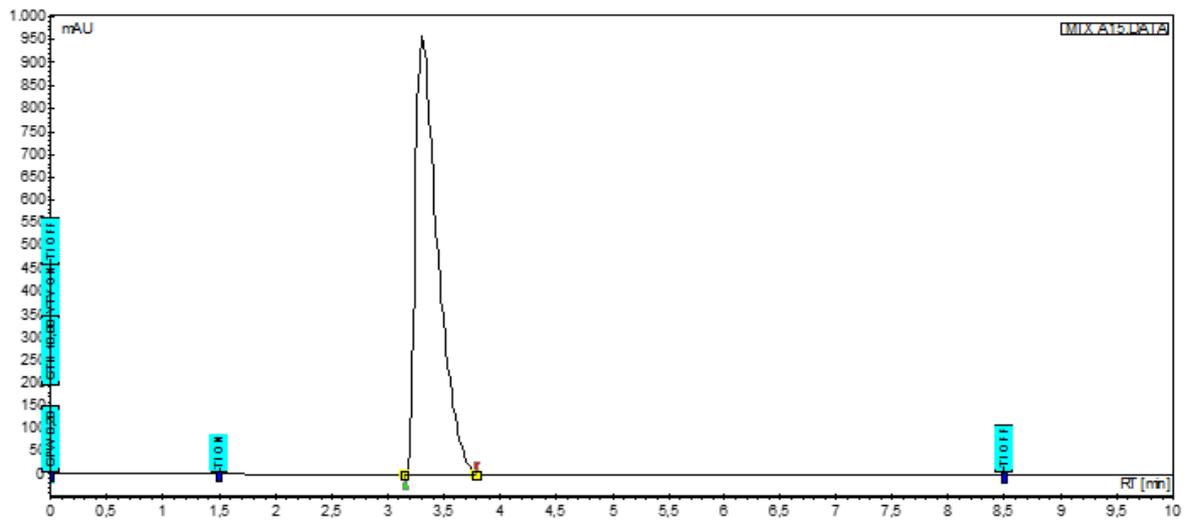


Figura 18. MTX bolsa Flebotek a 3.25 h

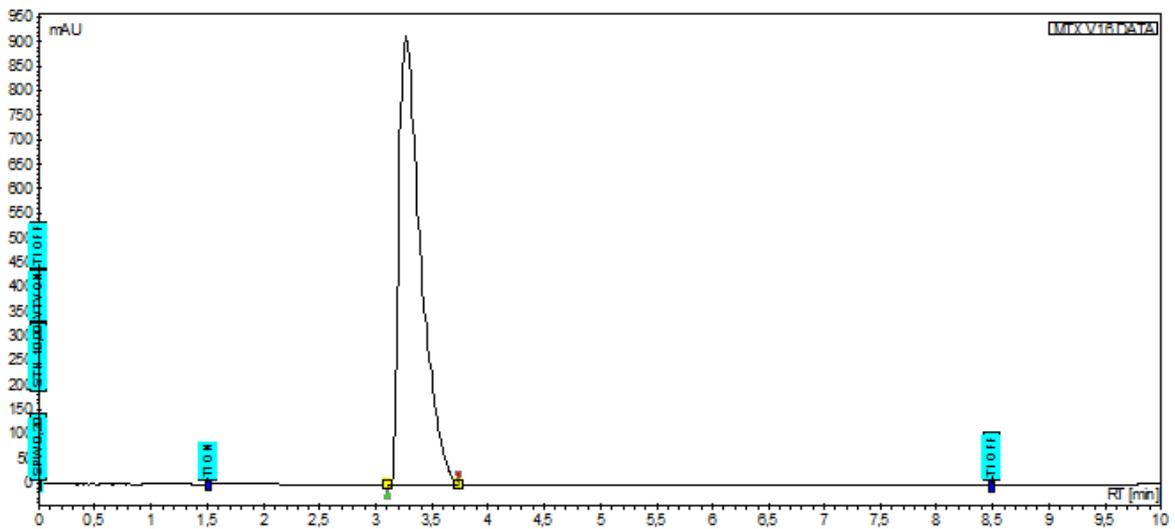


Figura 19. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.25 h

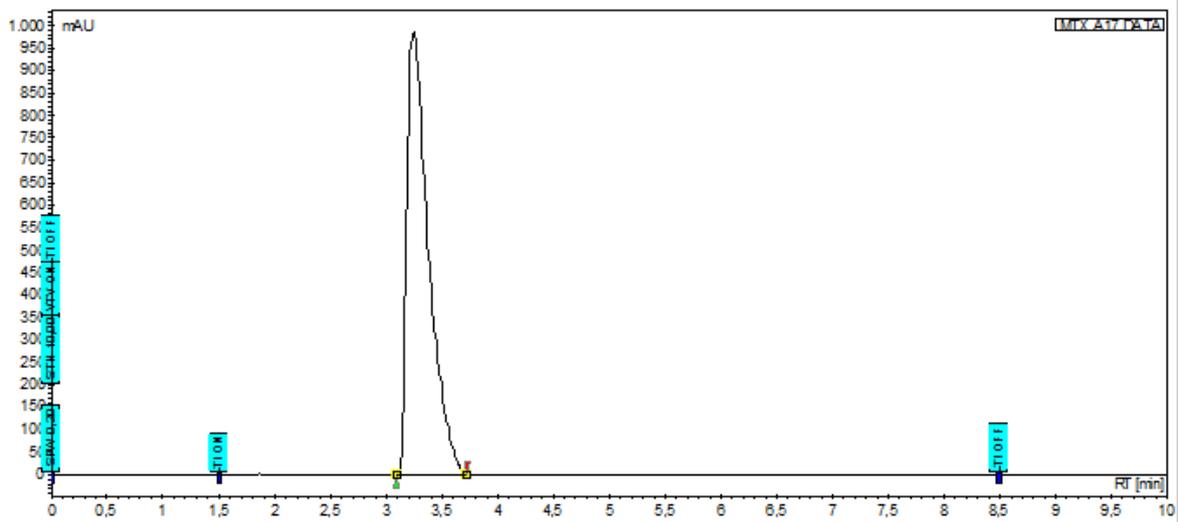


Figura 20. MTX bolsa Flebotek a 3.5 h

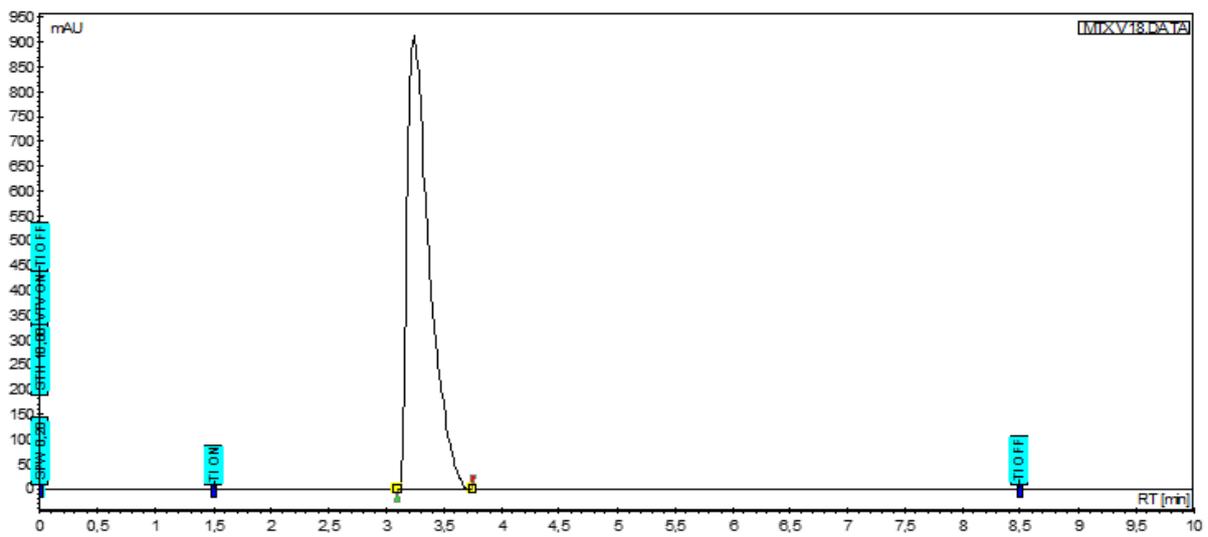


Figura 21. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.5 h

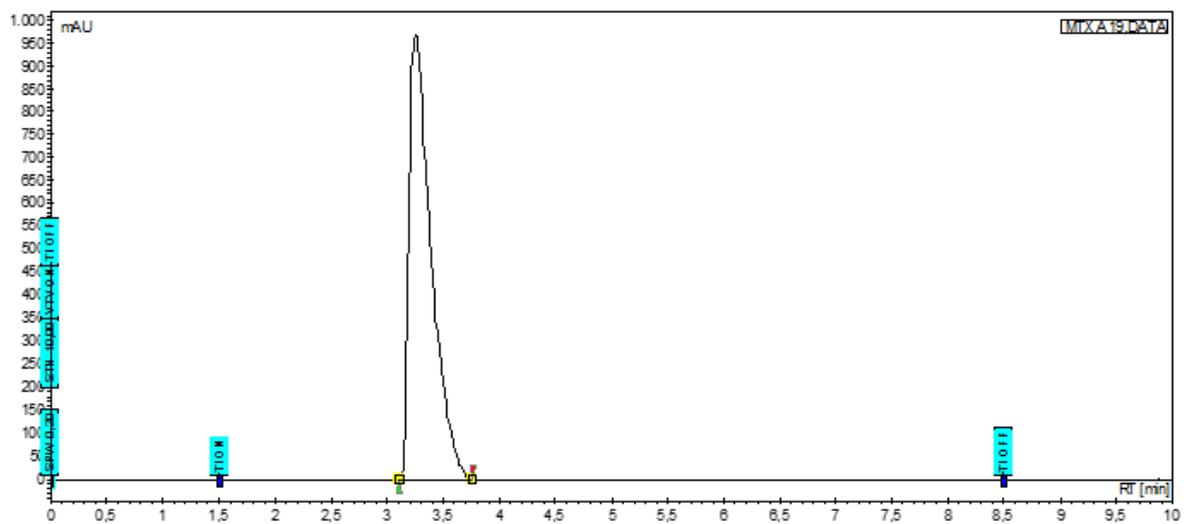


Figura 22. MTX bolsa Flebotek a 3.75 h

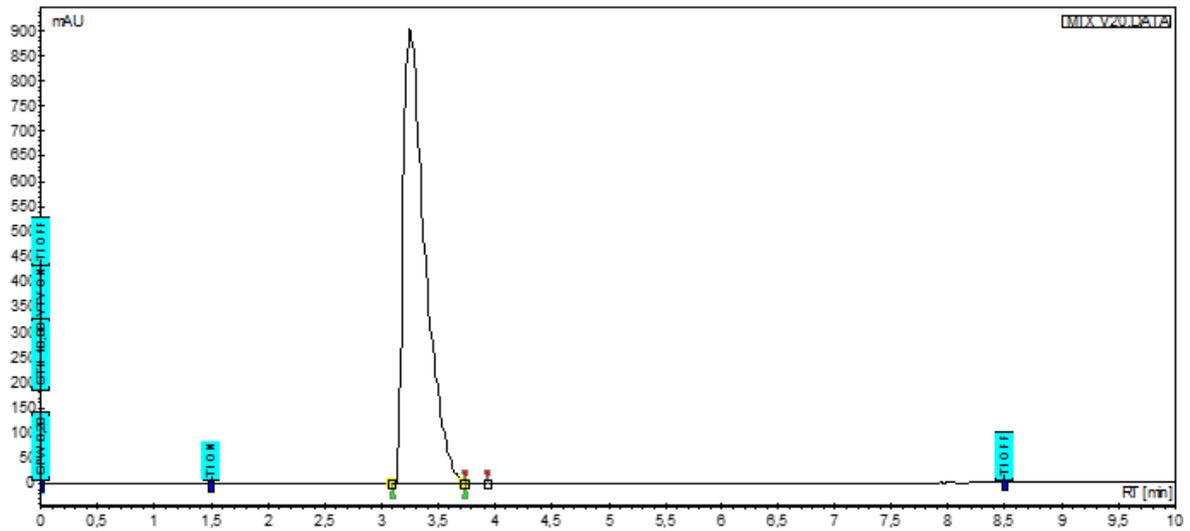


Figura 23. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.75 h

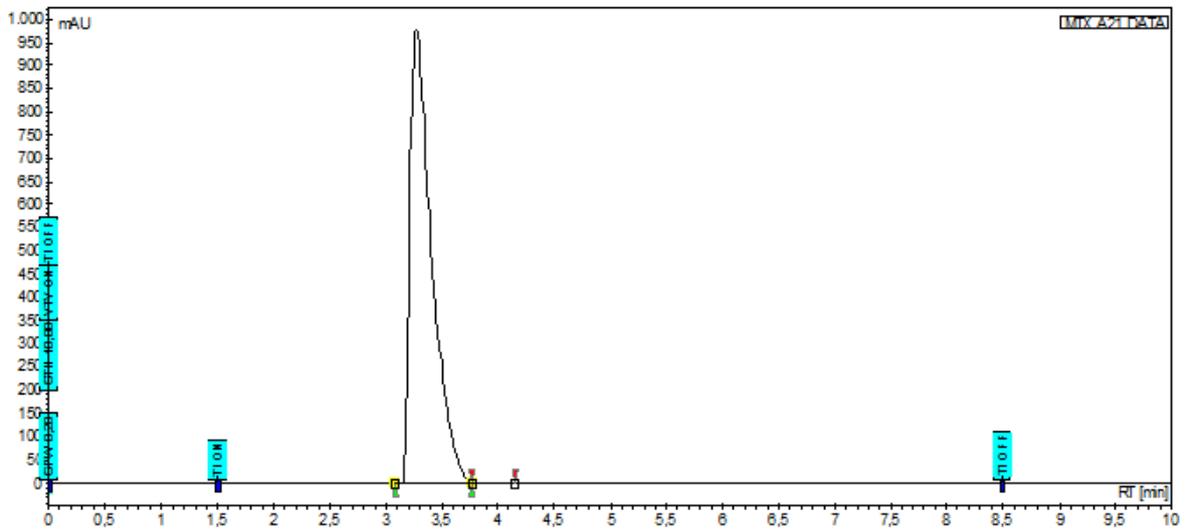


Figura 24. MTX bolsa Flebotek a 4 h

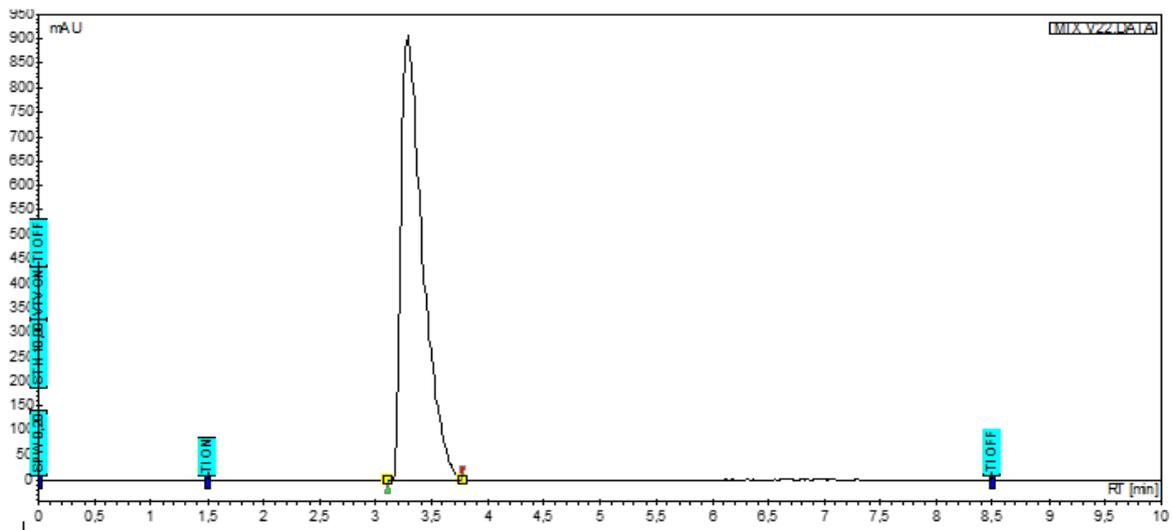


Figura 25. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4 h

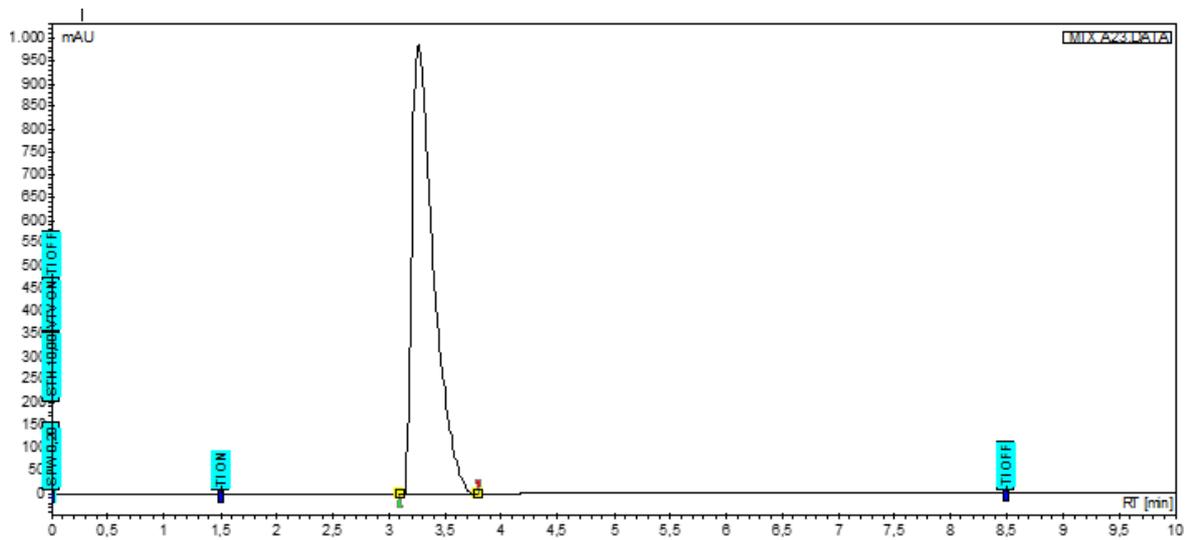


Figura 26. MTX bolsa Flebotek a 4.25 h

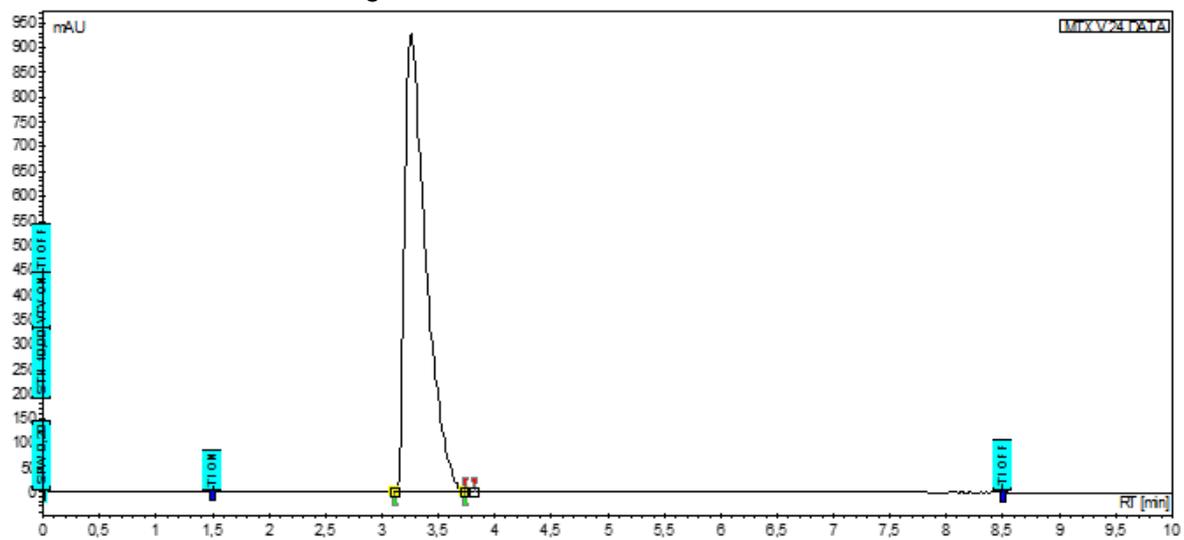


Figura 27. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.25 h

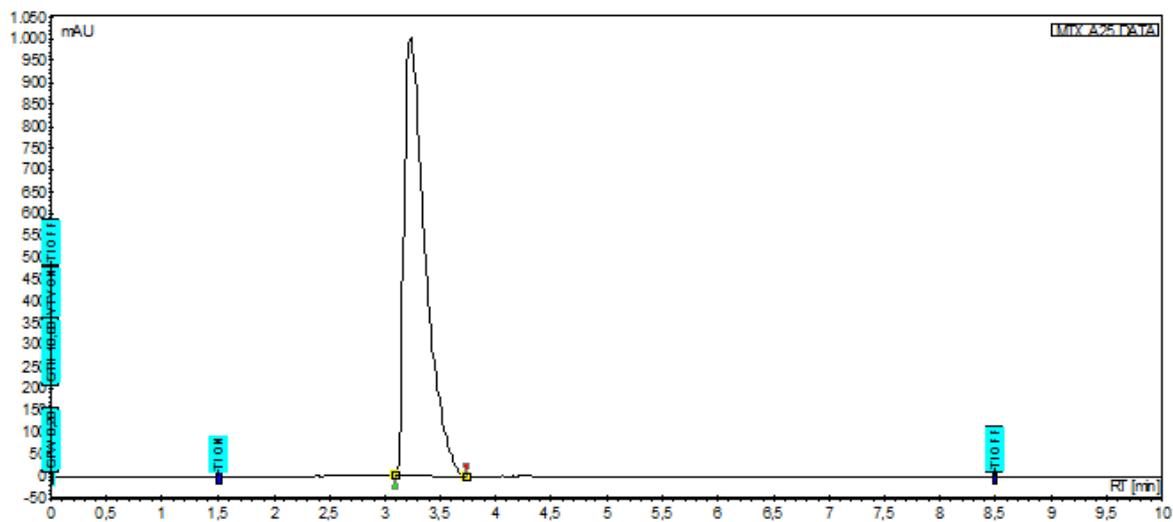


Figura 28. MTX bolsa Flebotek a 4.5 h

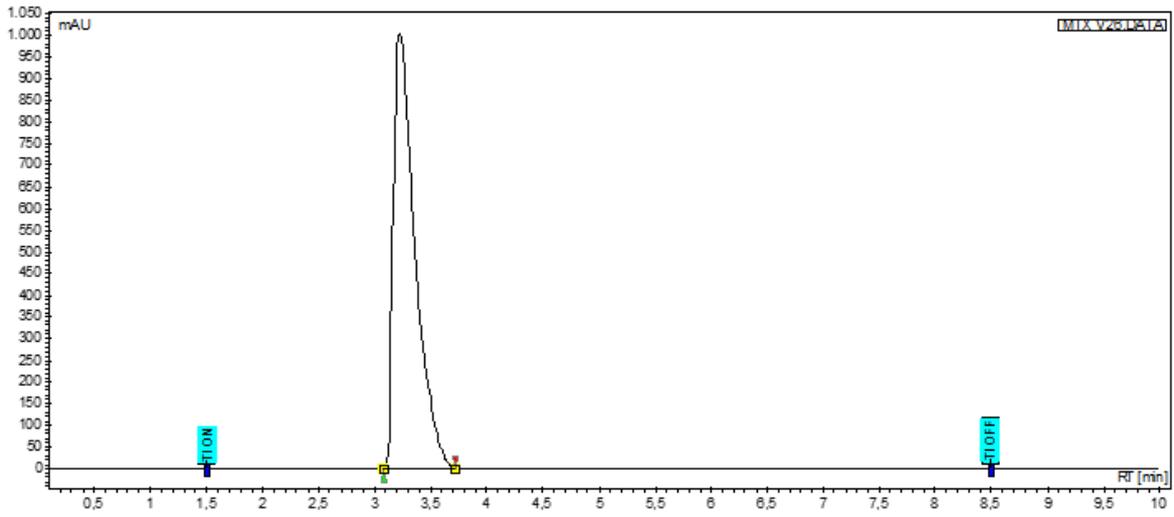


Figura 29. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.5 h

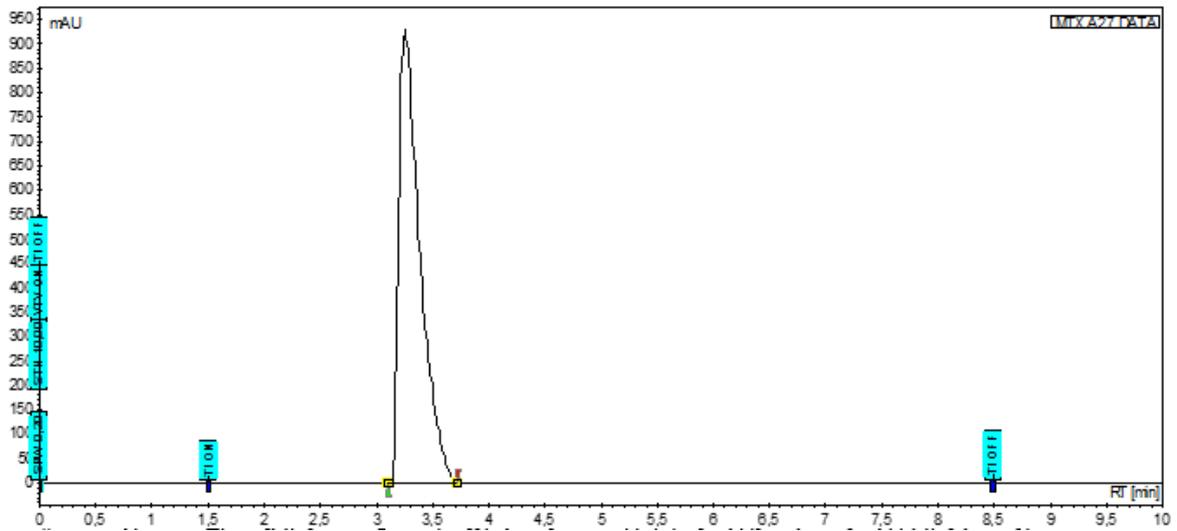


Figura 30. MTX bolsa Flebotek a 4.75 h

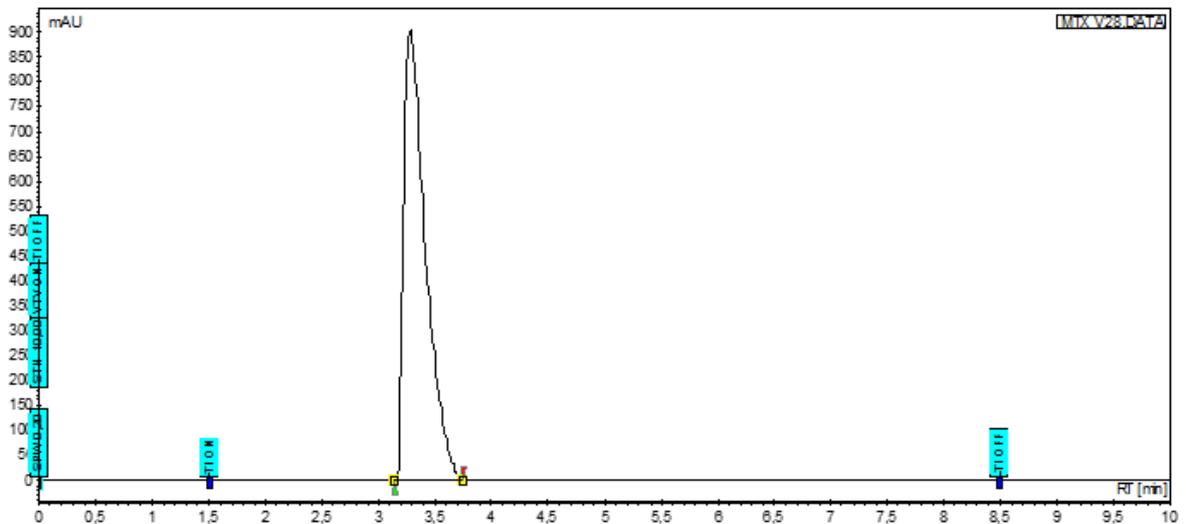


Figura 31. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.75 h

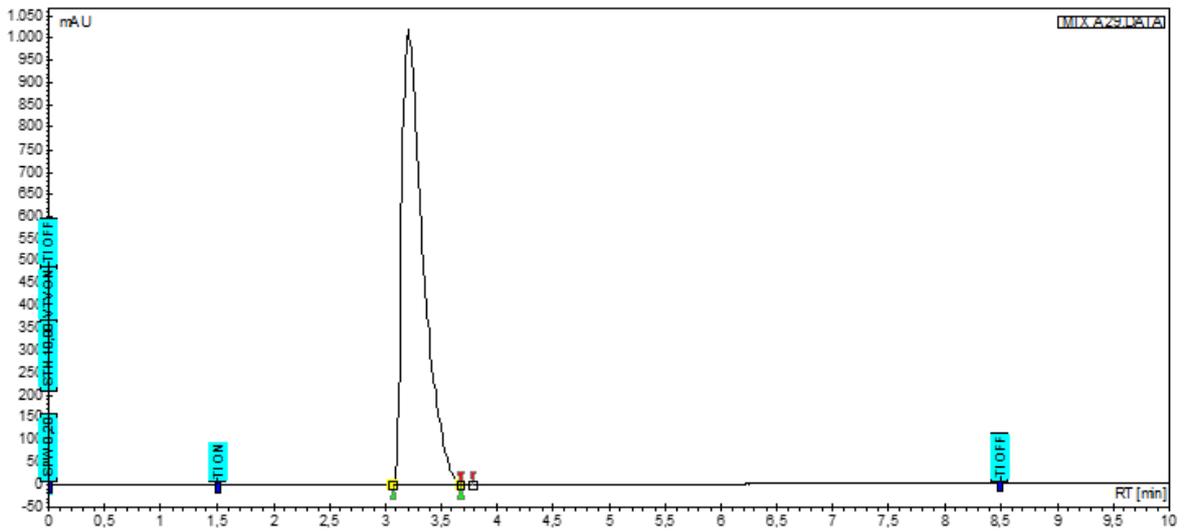


Figura 32. MTX bolsa Flebotek a 5 h

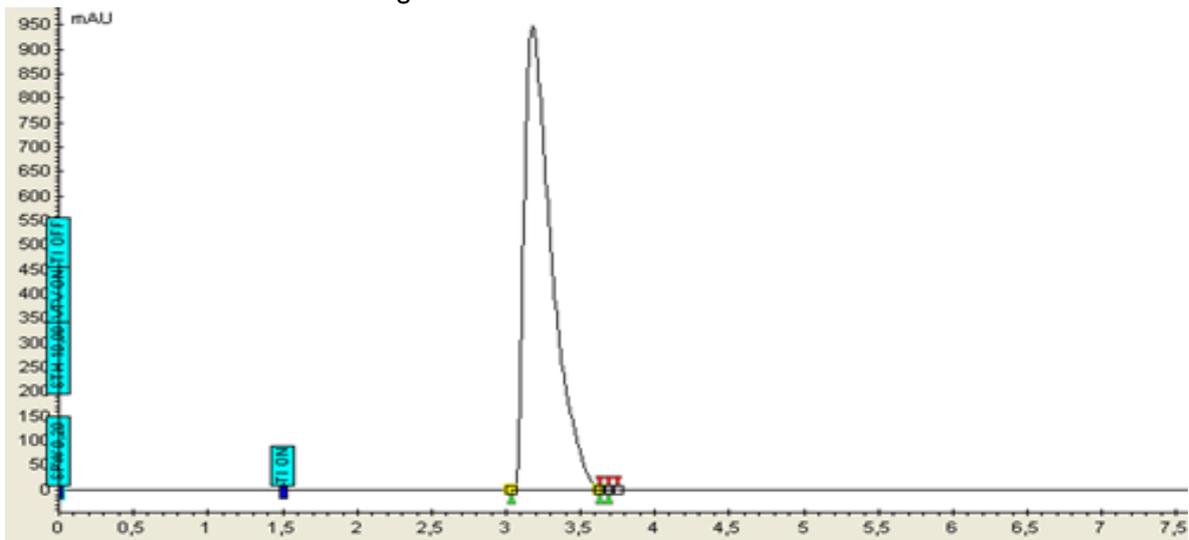


Figura 33. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5 h

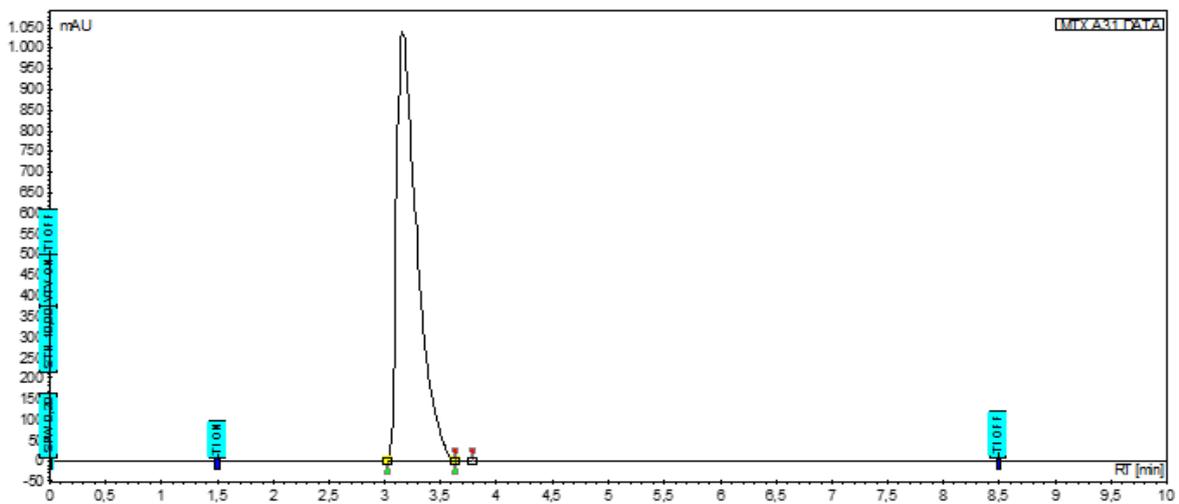


Figura 34. MTX bolsa Flebotek a 5.25 h

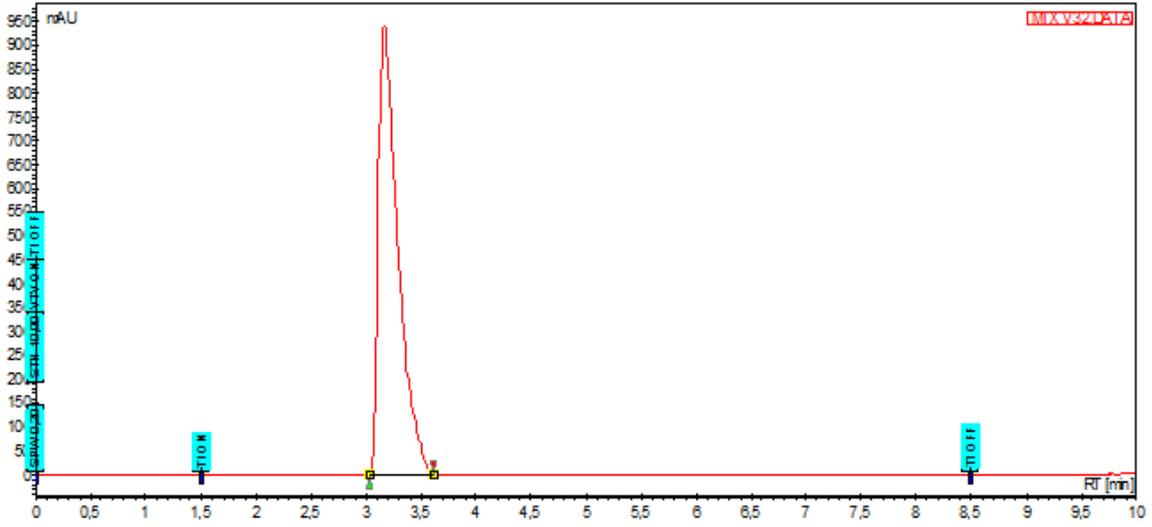


Figura 35. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.25 h

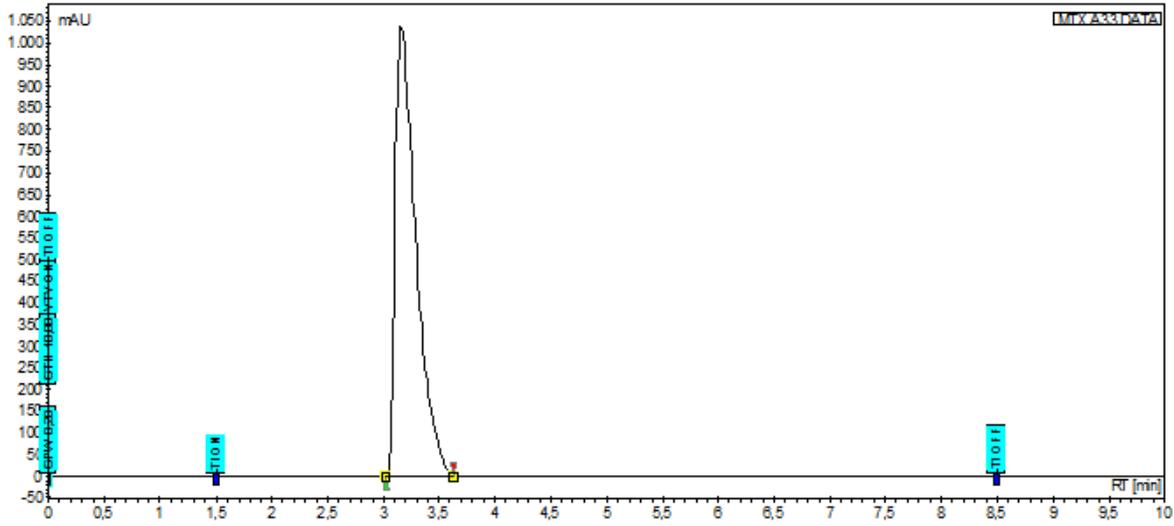


Figura 36. MTX bolsa Flebotek a 5.5 h

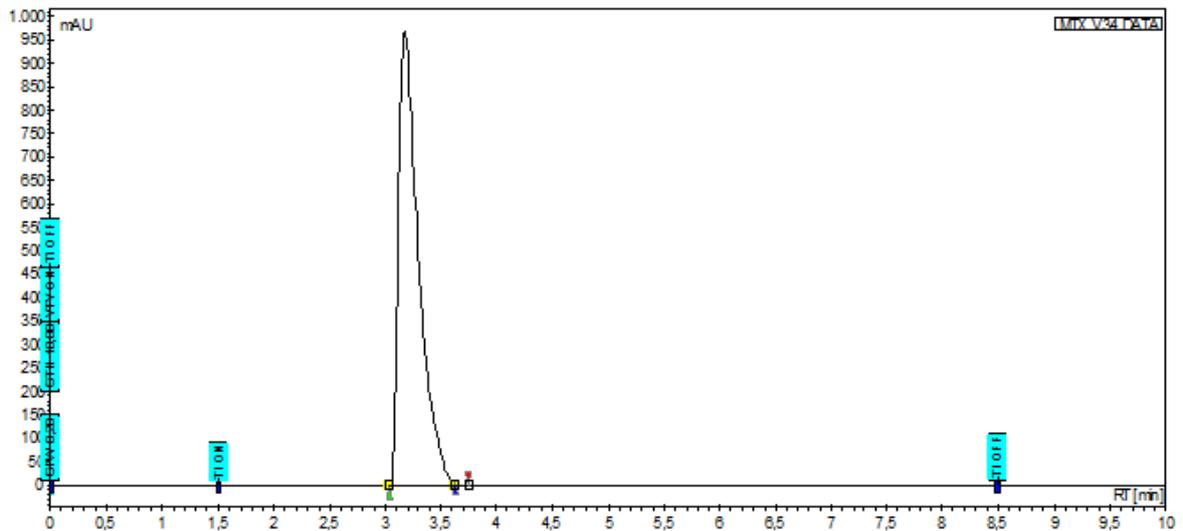


Figura 37. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.5 h

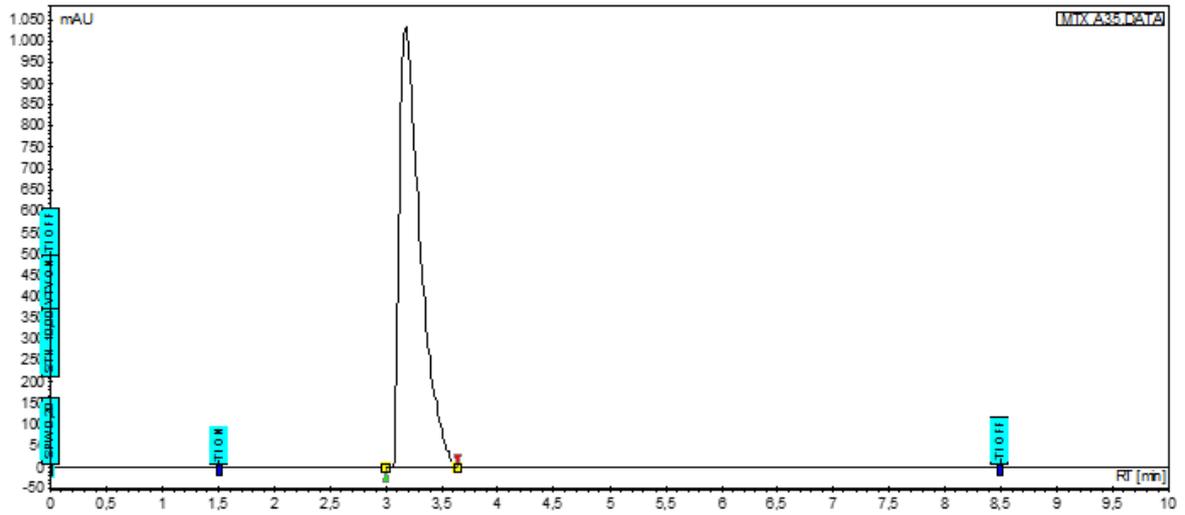


Figura 38. MTX bolsa Flebotek a 5.75 h

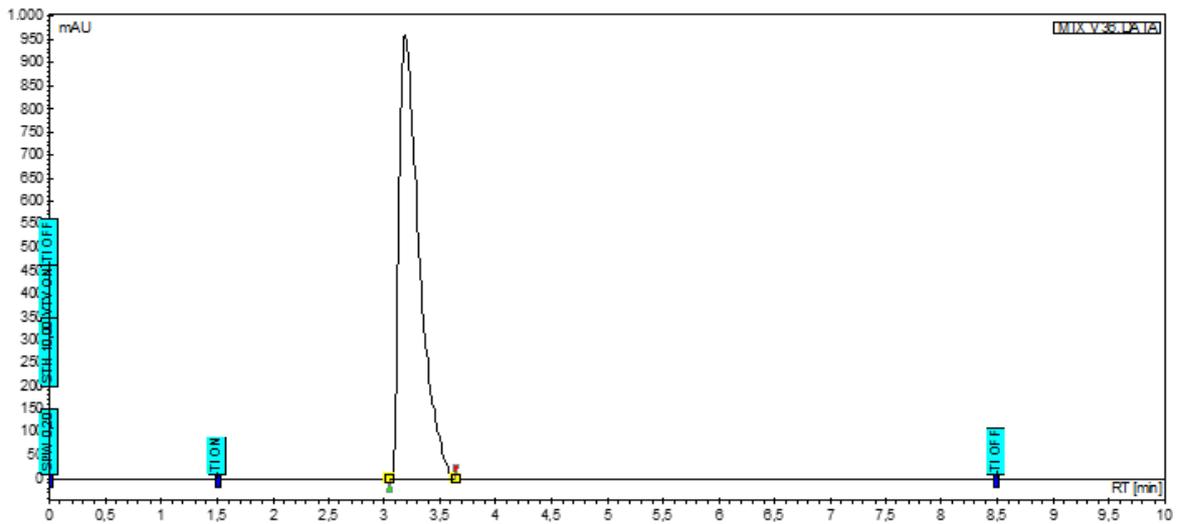


Figura 39. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.75 h

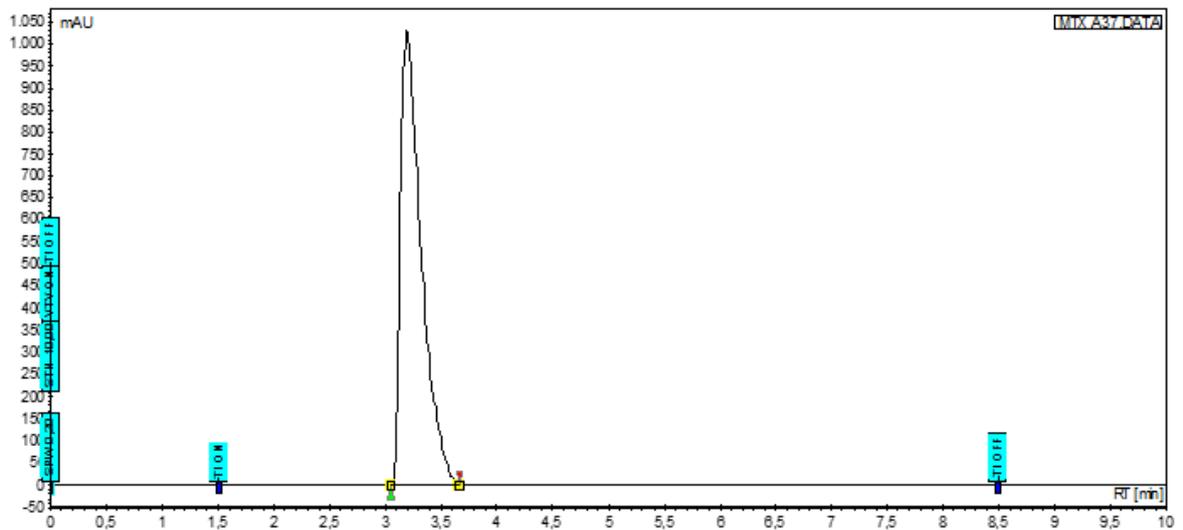


Figura 40. MTX bolsa Flebotek a 6 h

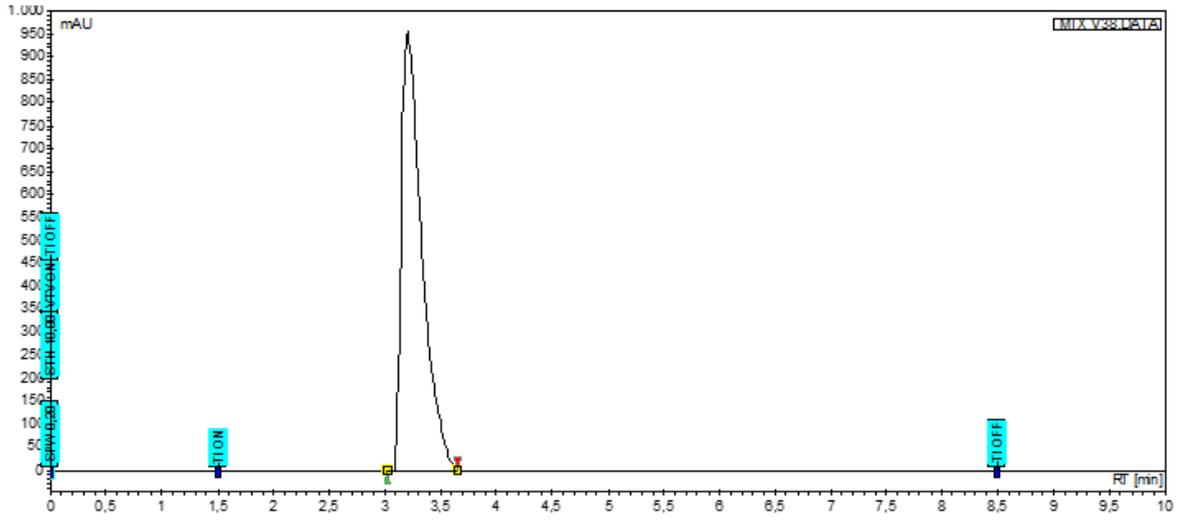


Figura 41. MTX bolsa Intrafix Primeline a 6 h

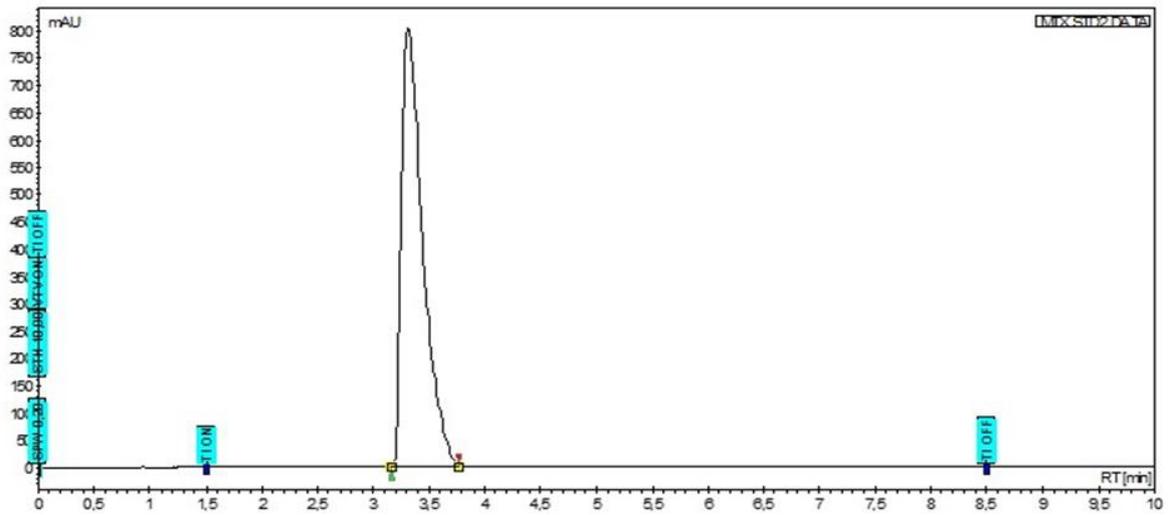


Figura 42. Estándar de MTX

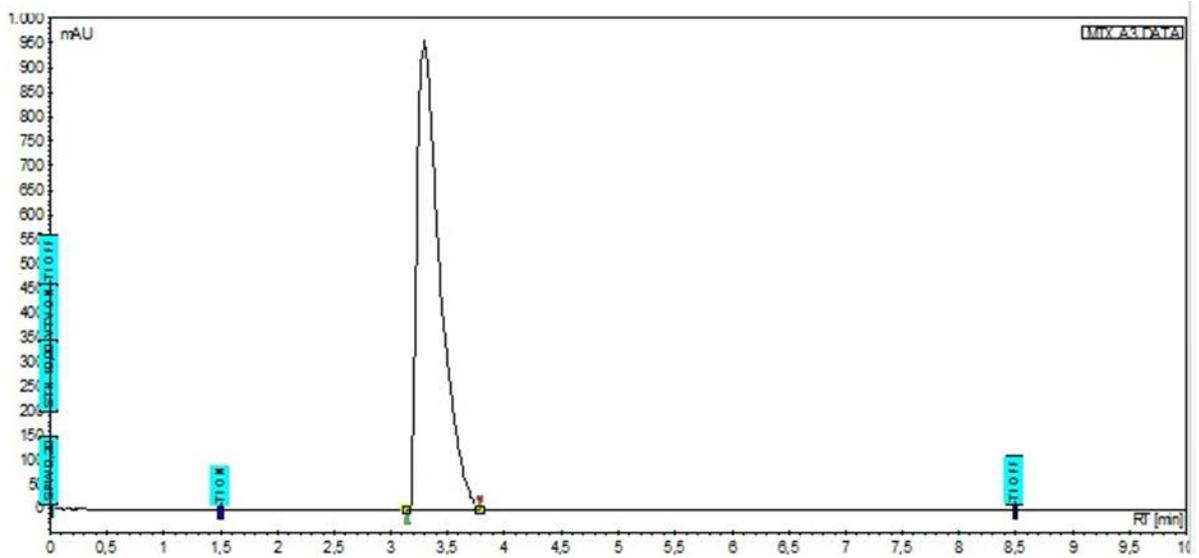


Figura 43. MTX bolsa Flebotek a 0.5 h

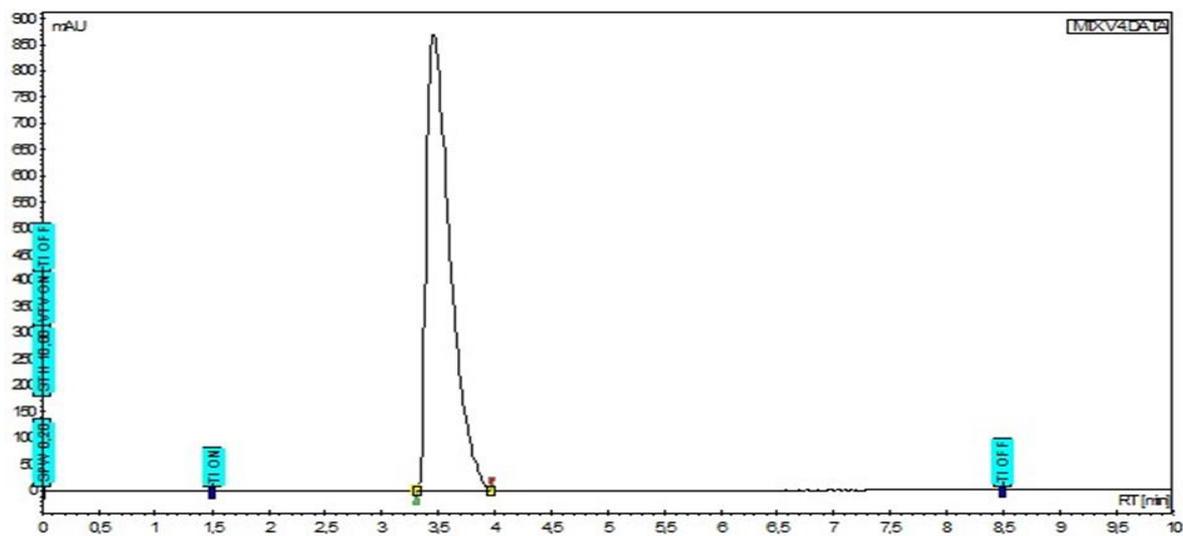


Figura 44. MTX bolsa Intrafix Primeline a 0.5 h

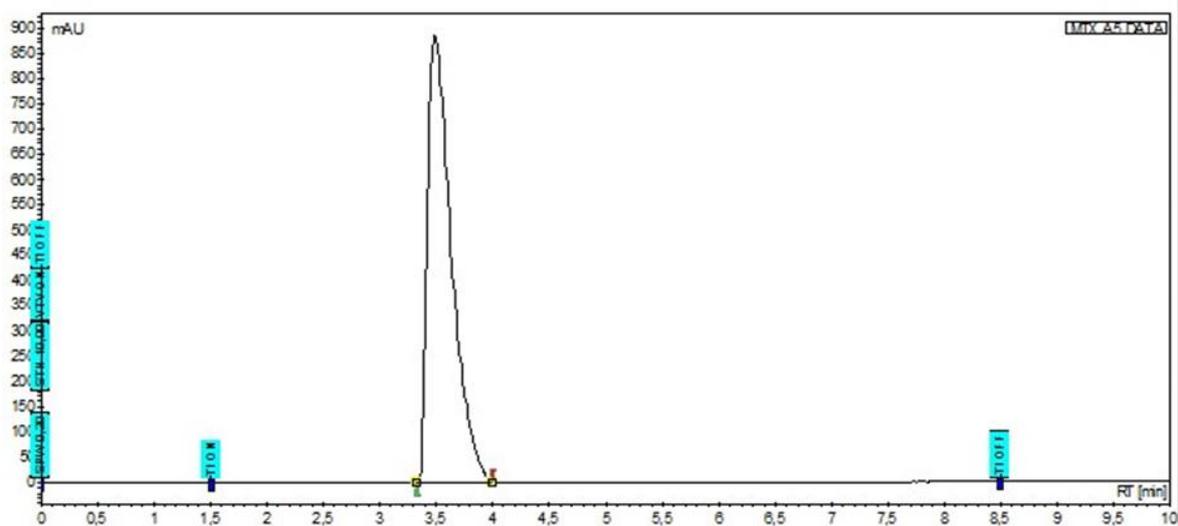


Figura 45. MTX bolsa Flebotek a 1 h

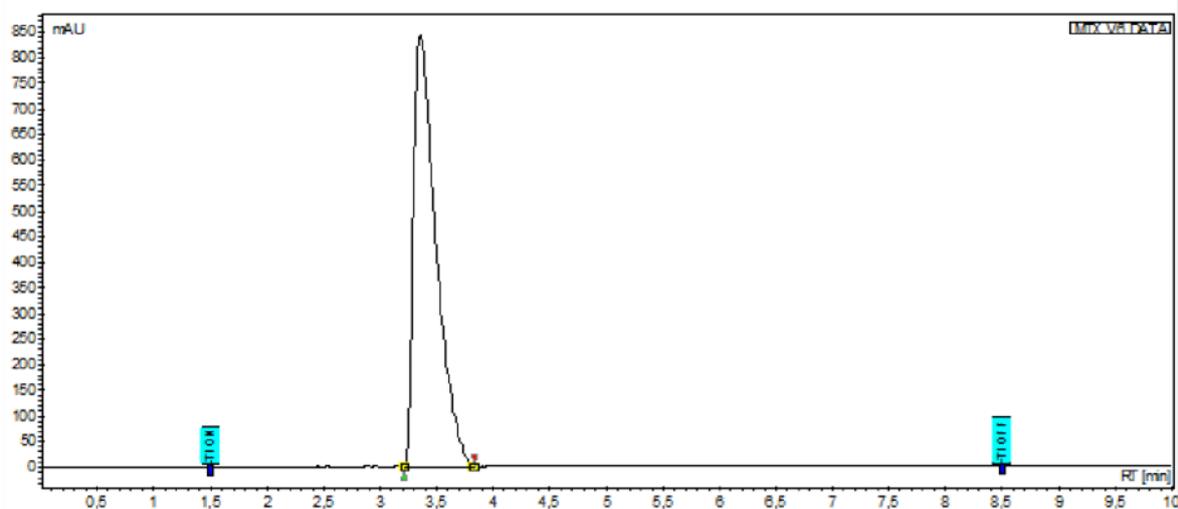


Figura 46. MTX bolsa Intrafix Primeline a 1 h

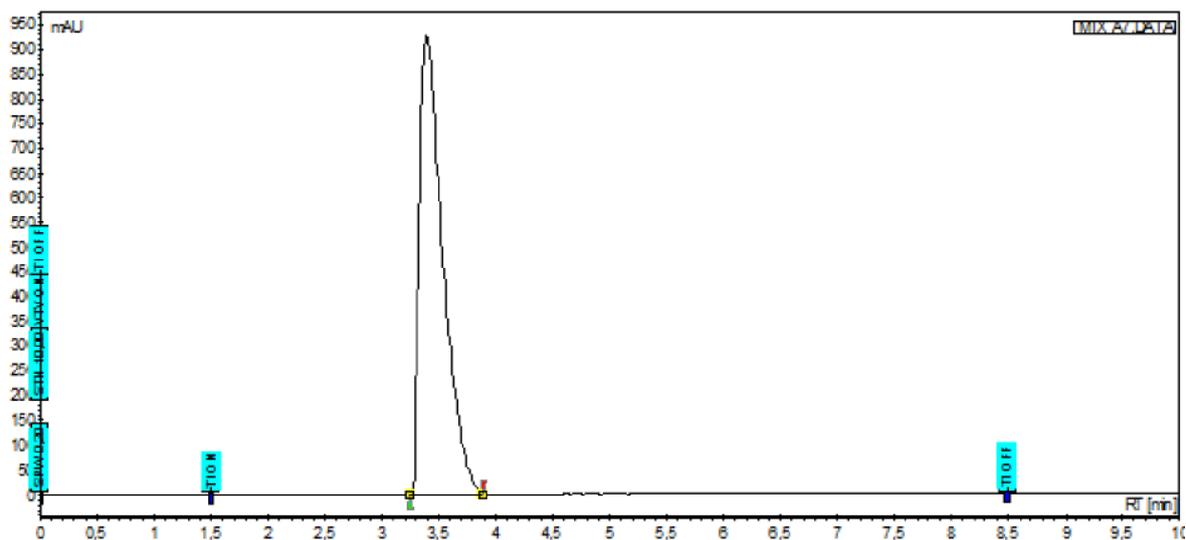


Figura 47. MTX bolsa Flebotek a 1.5 h

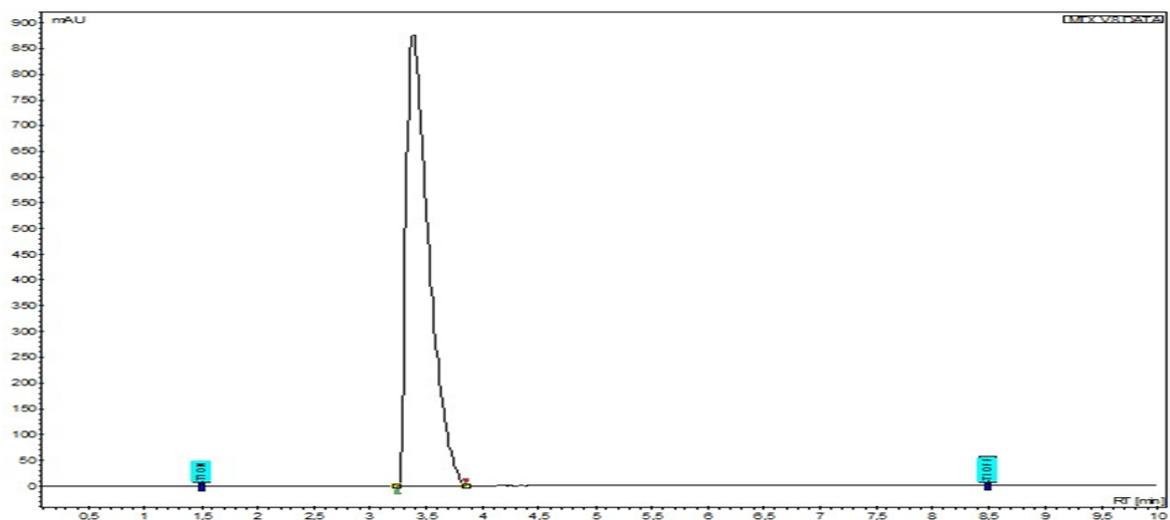


Figura 48. MTX bolsa Intrafix Primeline a 1.5

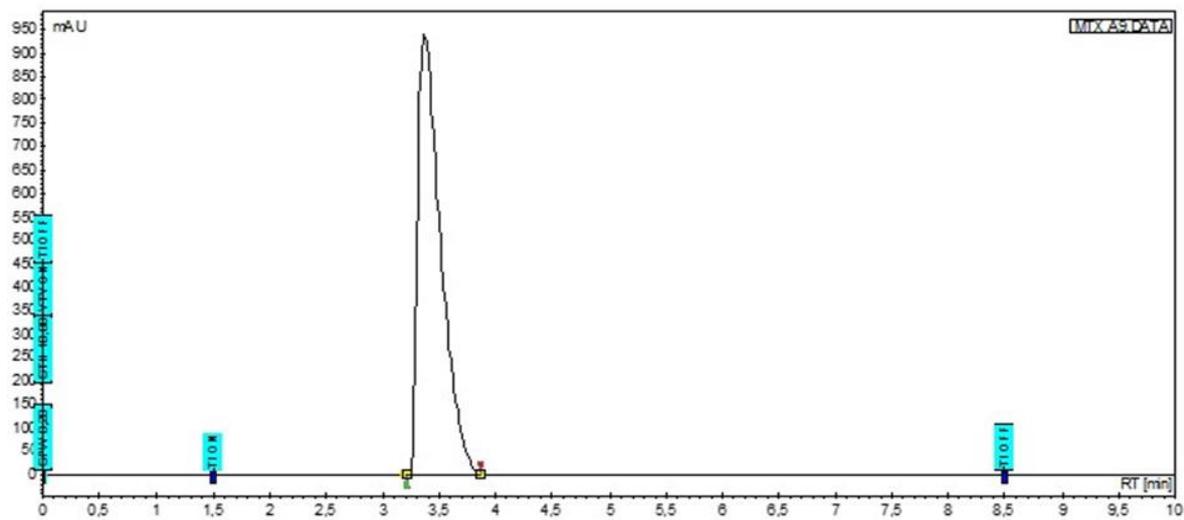


Figura 49. MTX bolsa Flebotek a 2 h

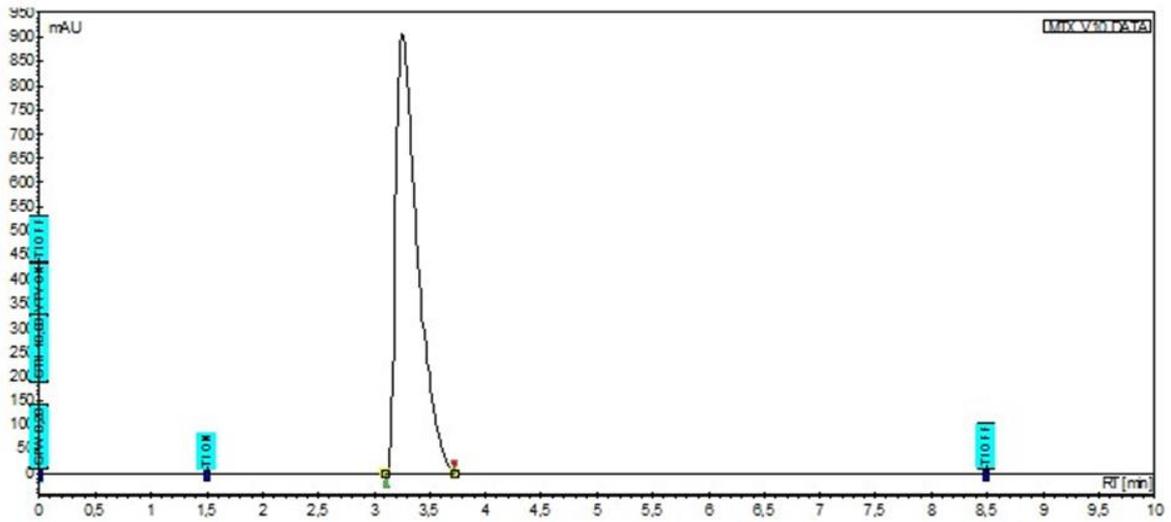


Figura 50. MTX bolsa Intrafix Primeline a 2 h

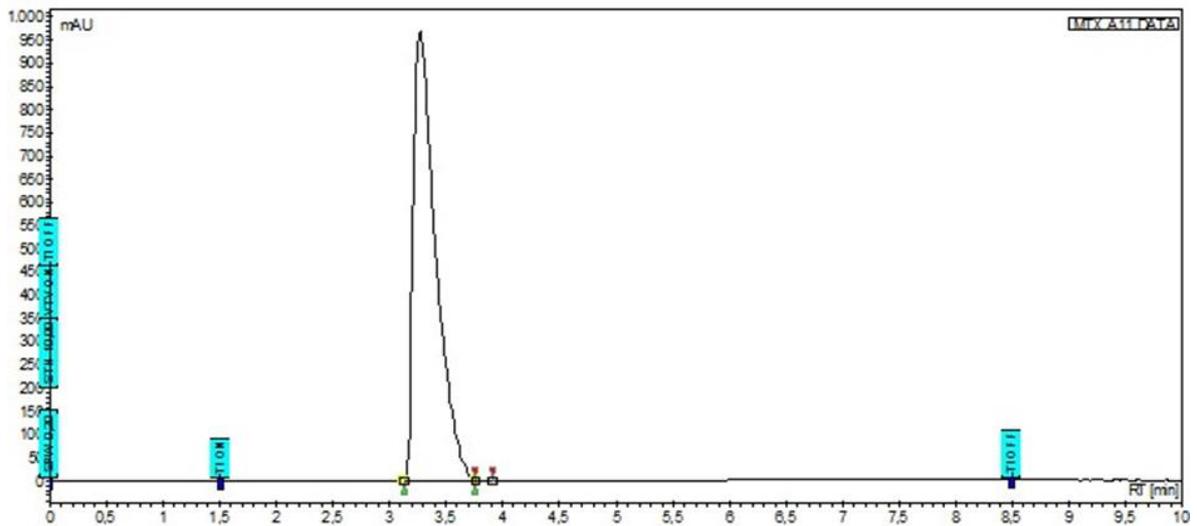


Figura 51. MTX bolsa Flebotek a 2.5

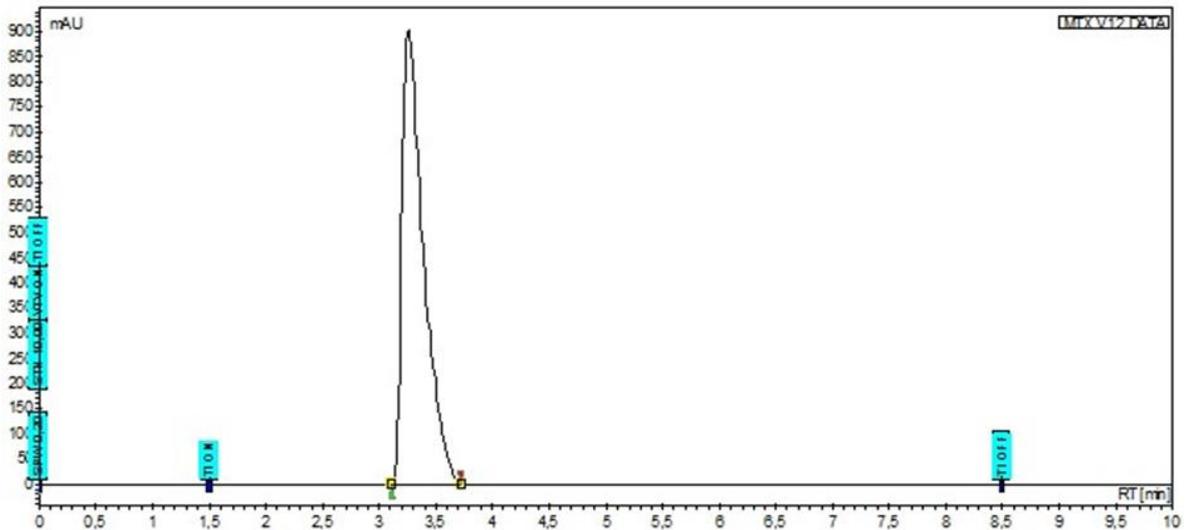


Figura 52. MTX bolsa Intrafix Primeline a 2.5 h

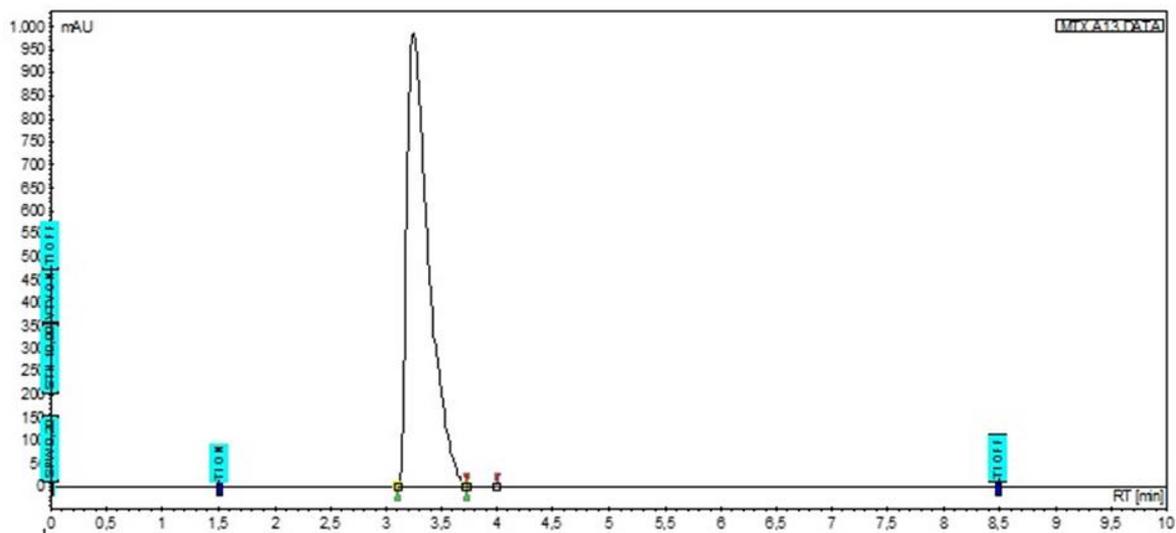


Figura 53. MTX bolsa Flebotek a 3 h

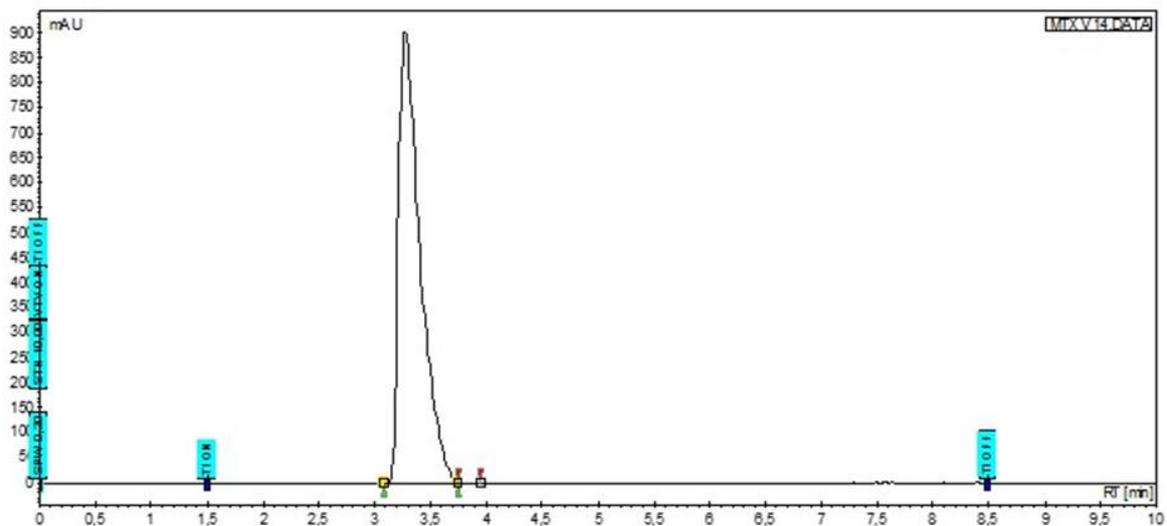


Figura 54. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3 h

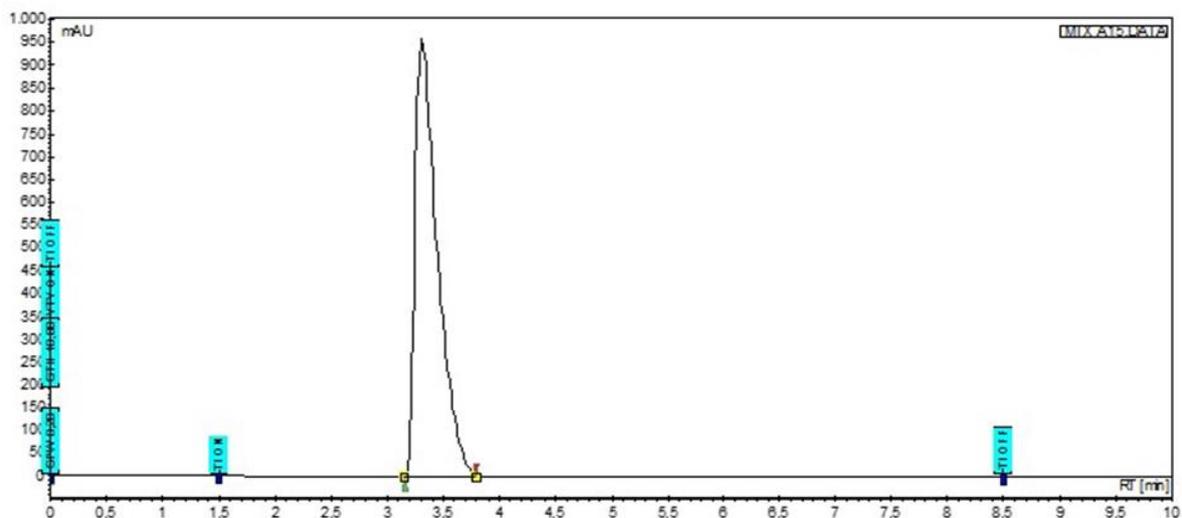


Figura 55. MTX bolsa Flebotek a 3.25 h

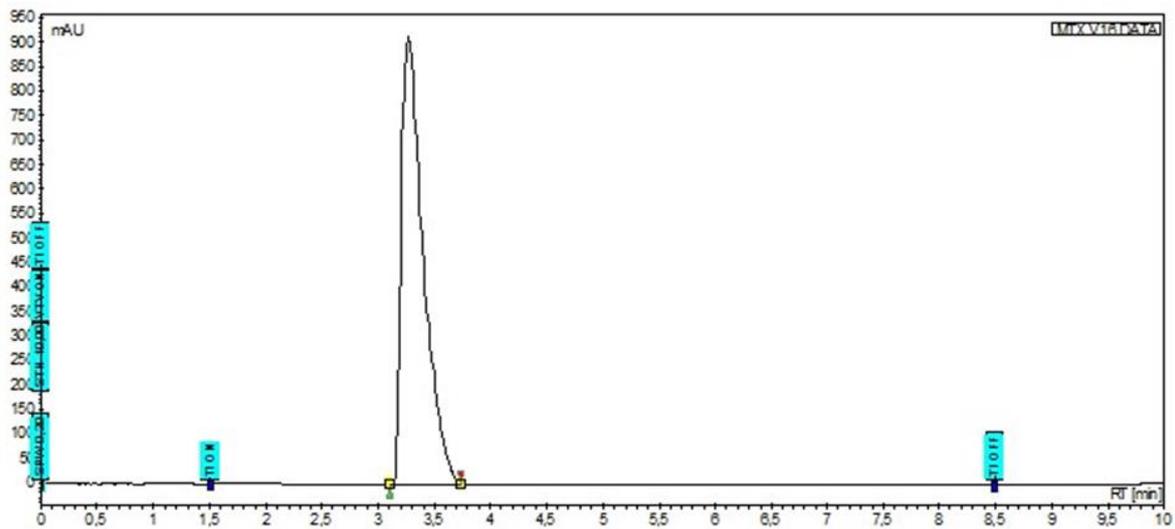


Figura 56. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.25 h

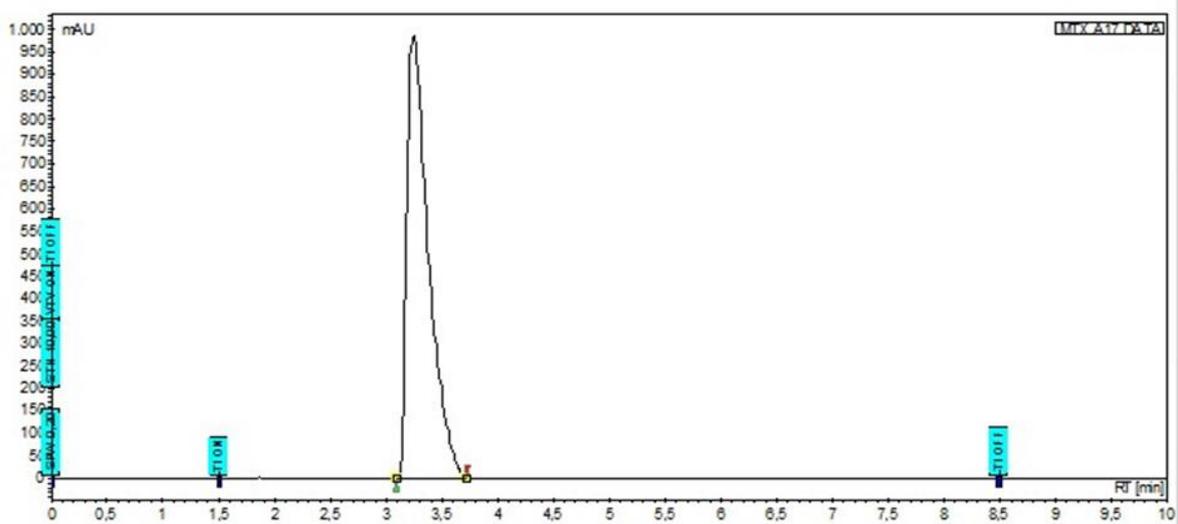


Figura 57. MTX bolsa Flebotek a 3.5 h

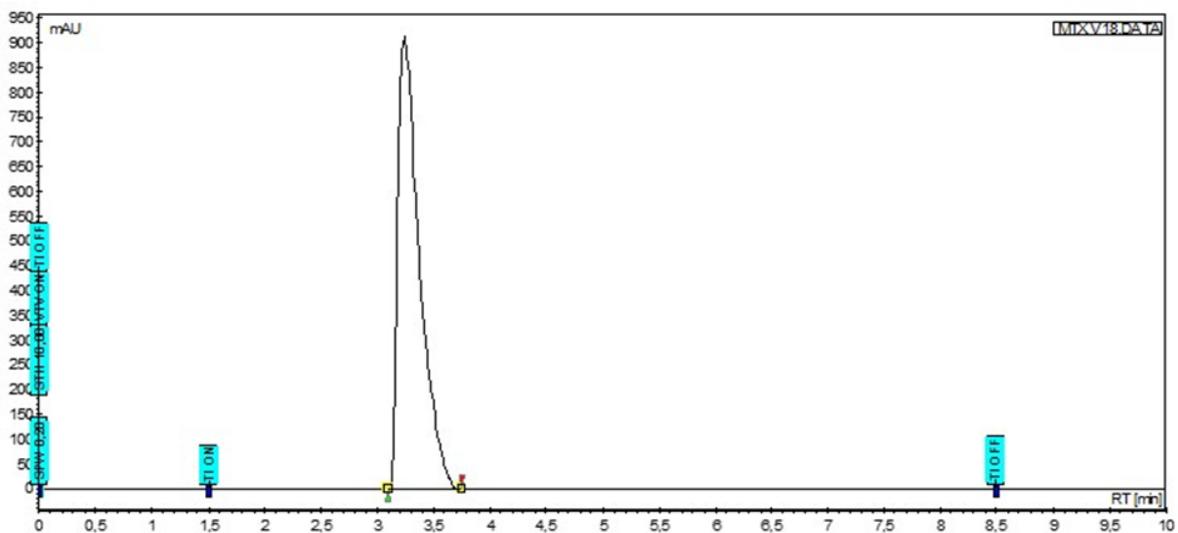


Figura 58. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.5 h

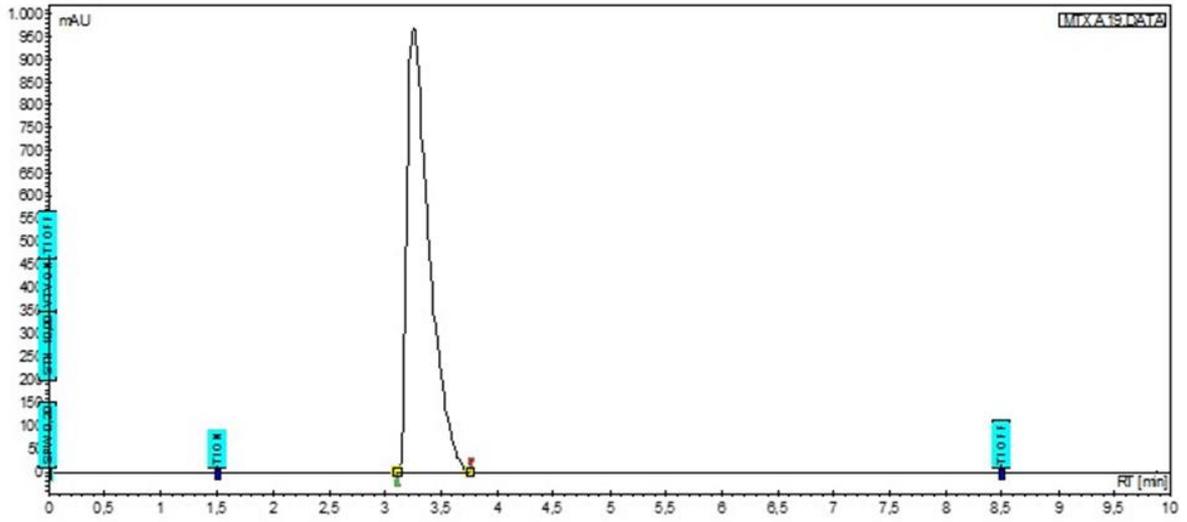


Figura 59. MTX bolsa Flebotek a 3.75 h

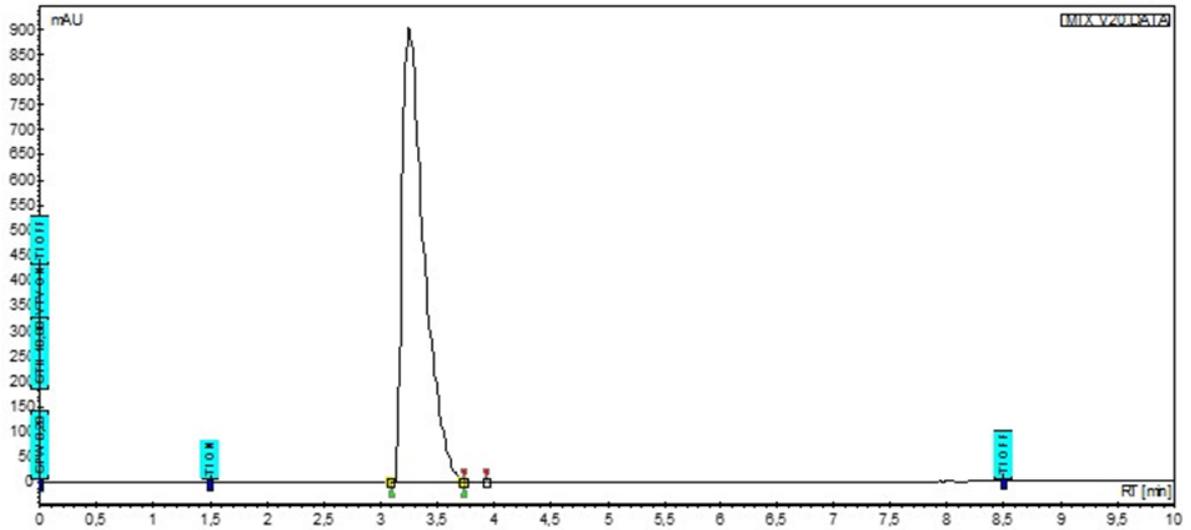


Figura 60. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.75 h

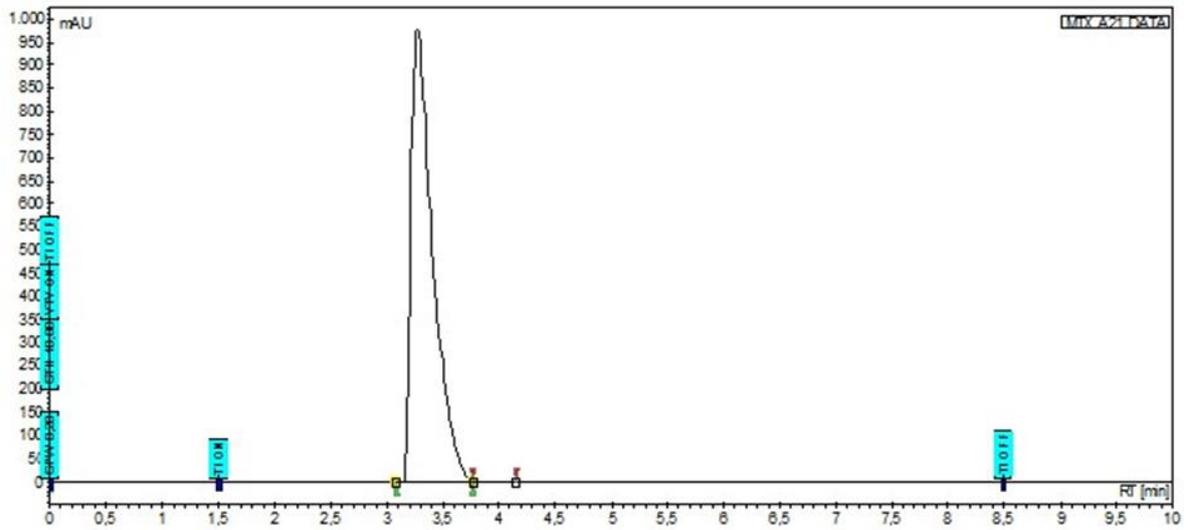


Figura 61. MTX bolsa Flebotek a 4 h

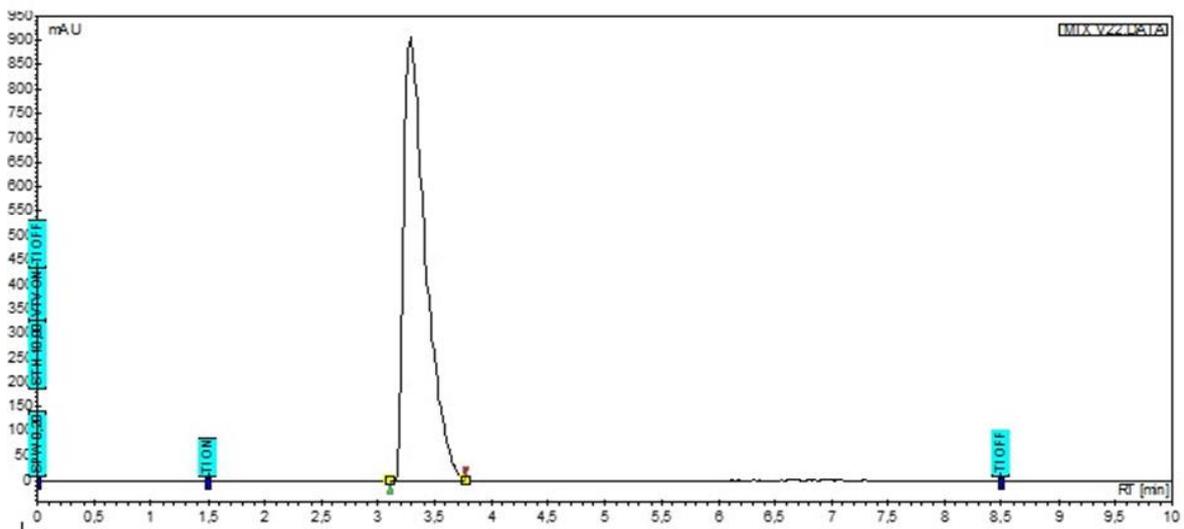


Figura 62. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4 h

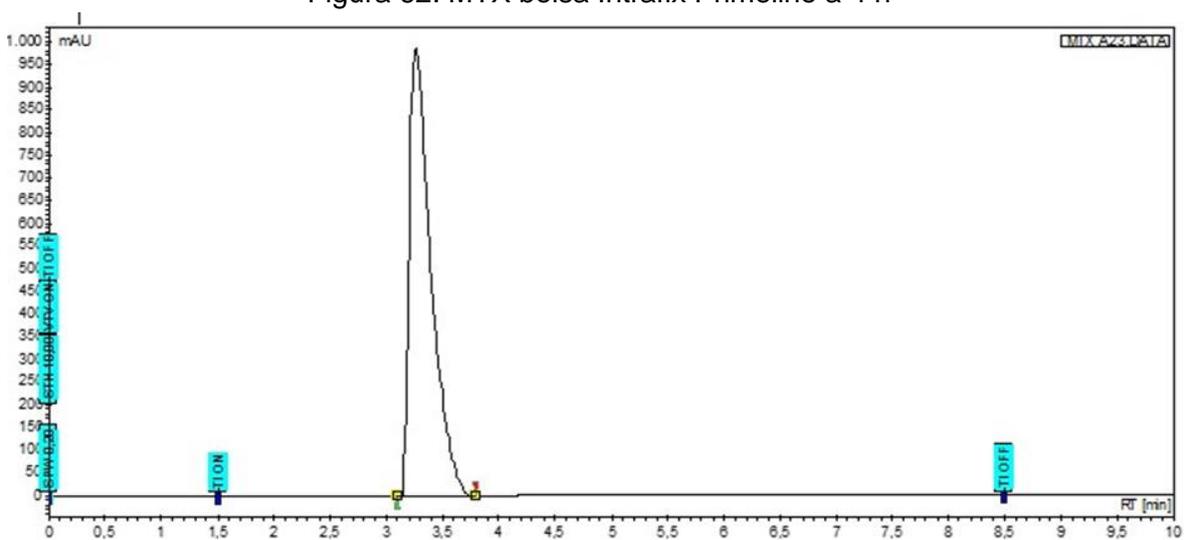


Figura 63. MTX bolsa Flebotek a 4.25 h

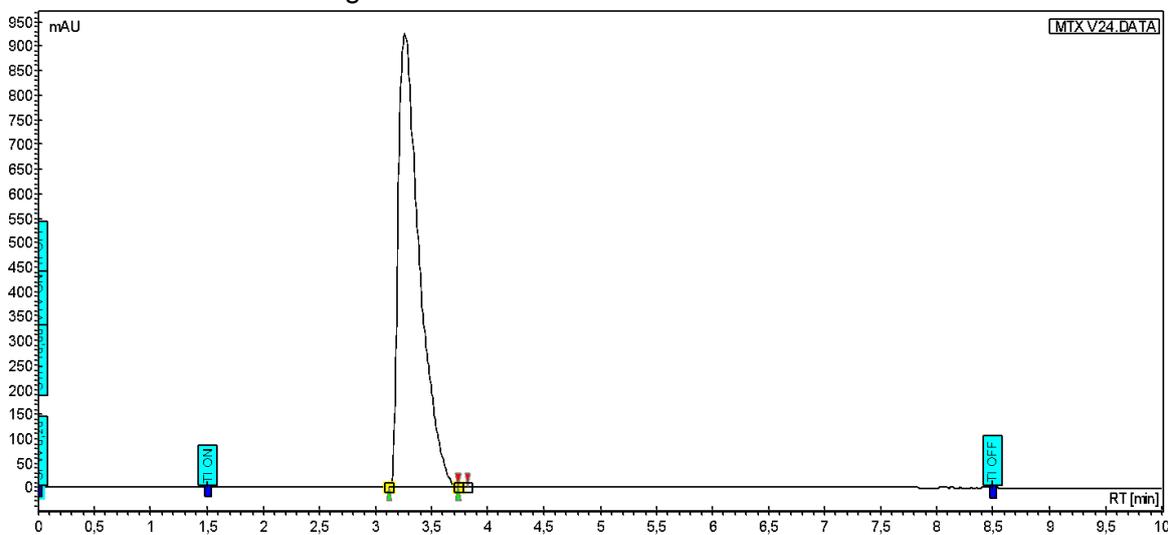


Figura 64. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.25 h

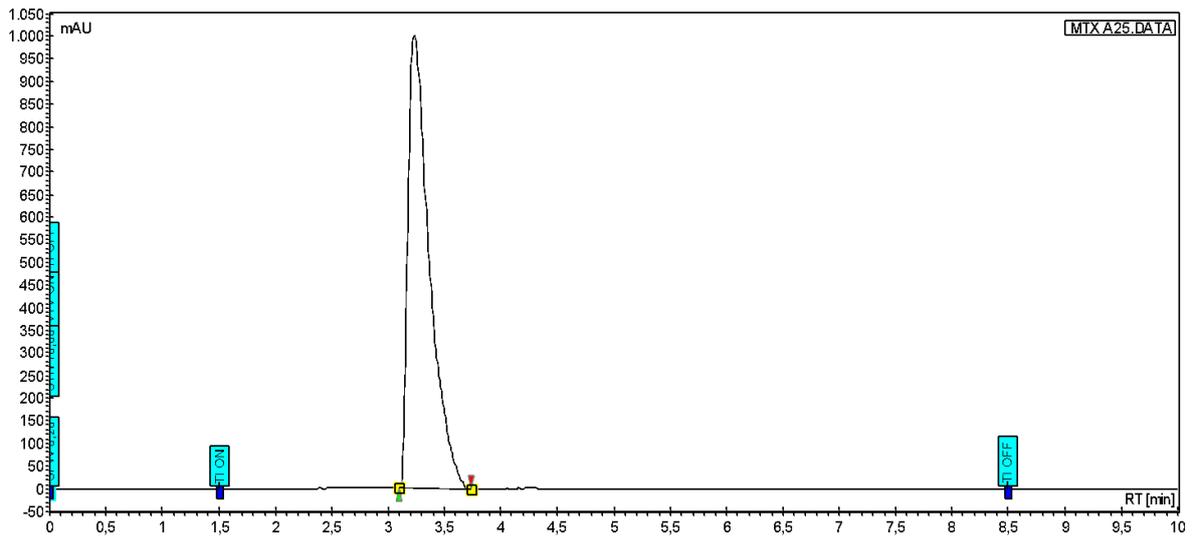


Figura 65. MTX bolsa Flebotek a 4.5 h

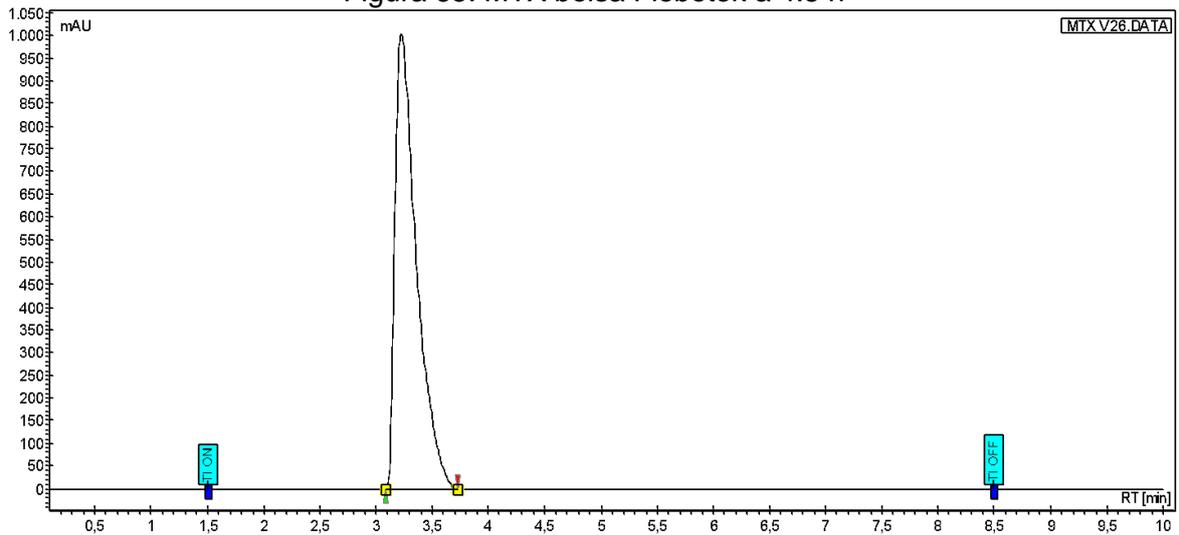


Figura 66. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.5 h

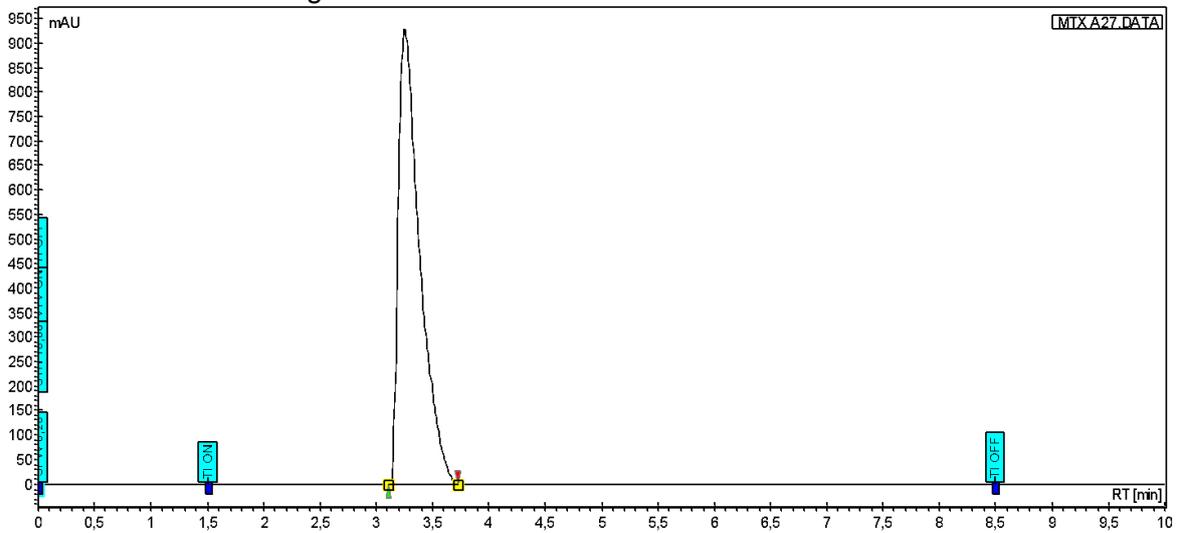


Figura 67. MTX bolsa Flebotek a 4.75 h

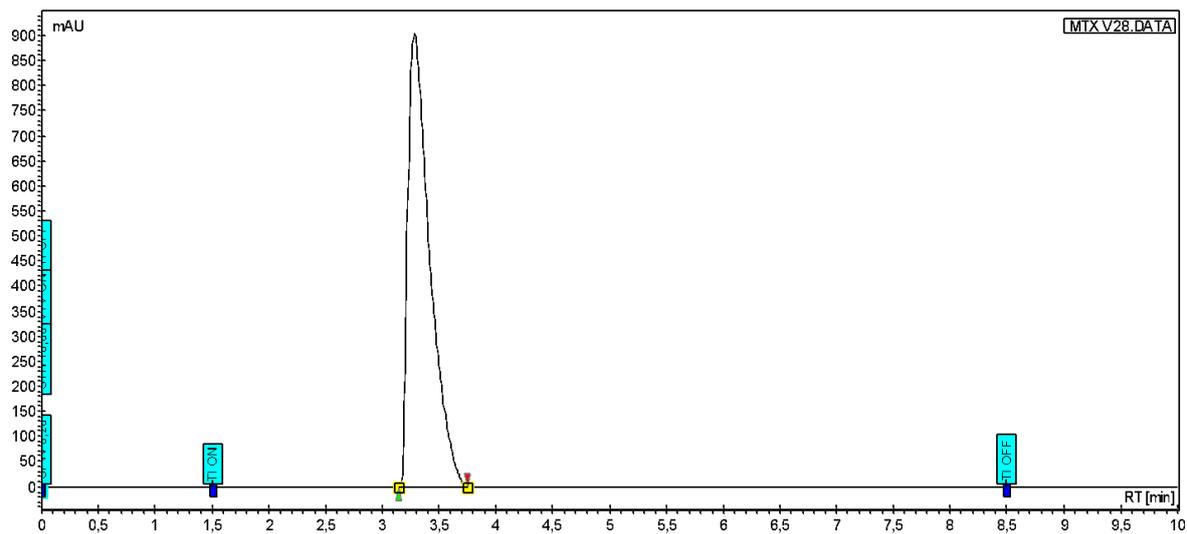


Figura 68. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.75 h

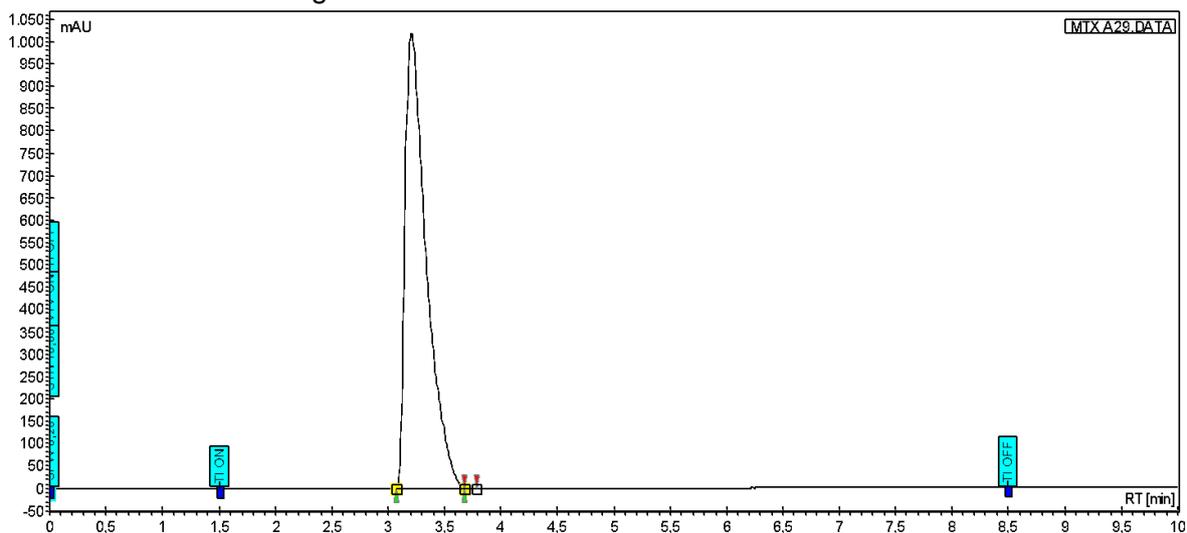


Figura 69. MTX bolsa Flebotek a 5 h

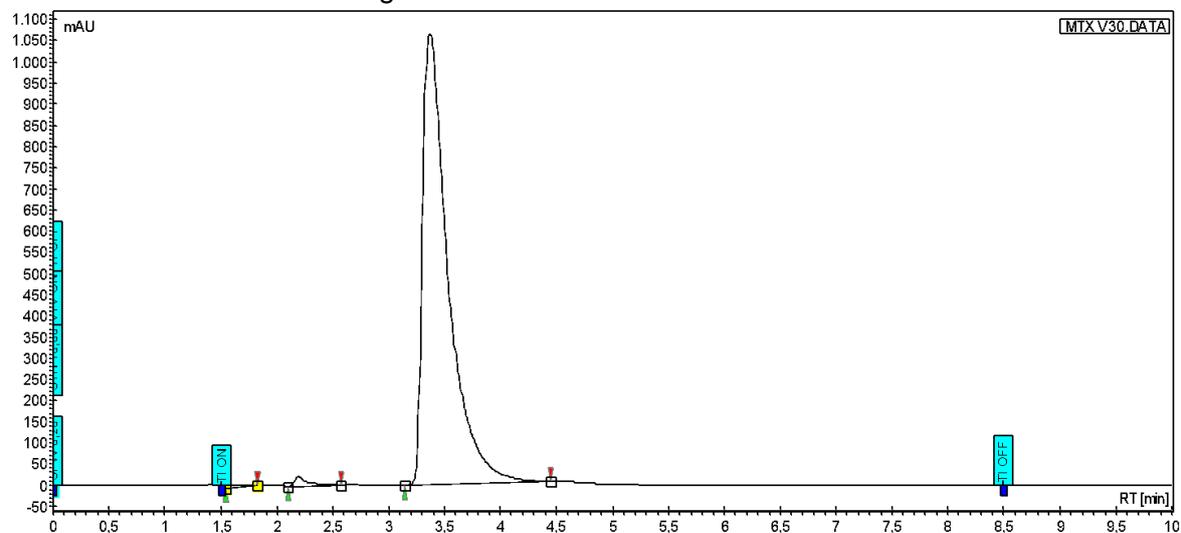


Figura 70. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5 h

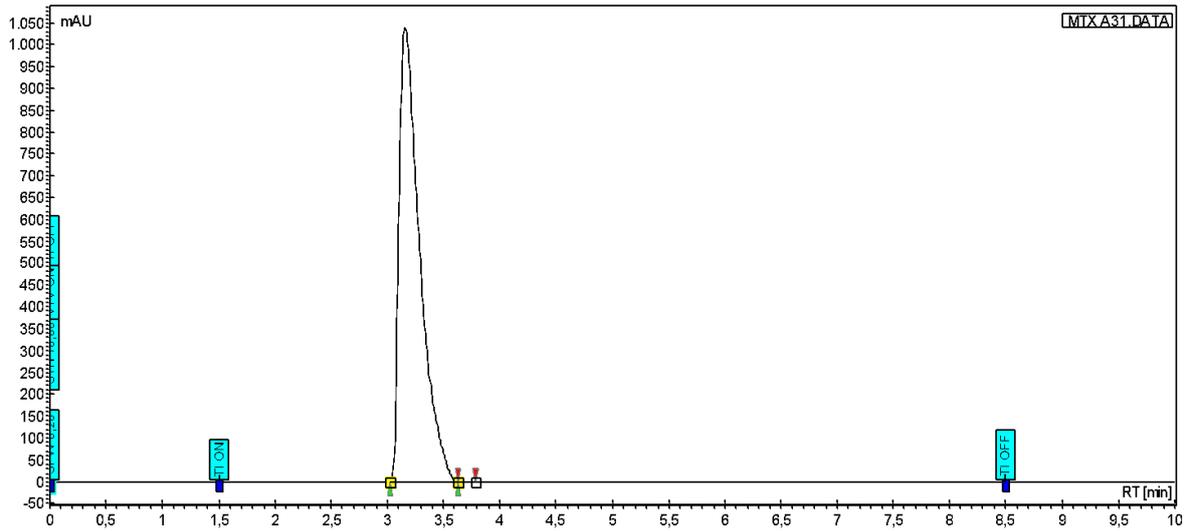


Figura 71. MTX bolsa Flebotek a 5.25 h

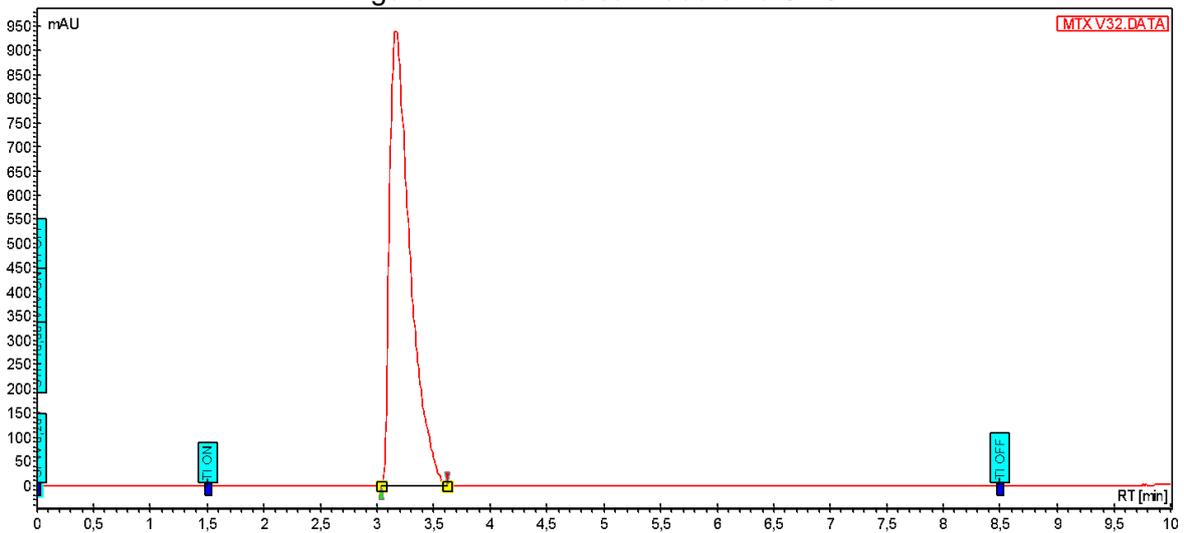


Figura 72. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.25 h

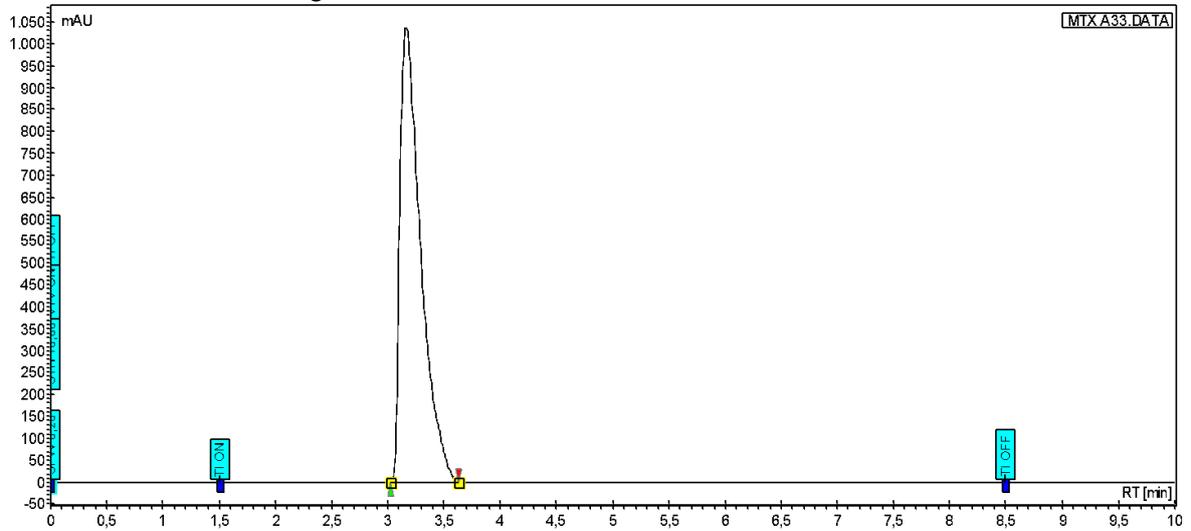


Figura 73. MTX bolsa Flebotek a 5.5 h

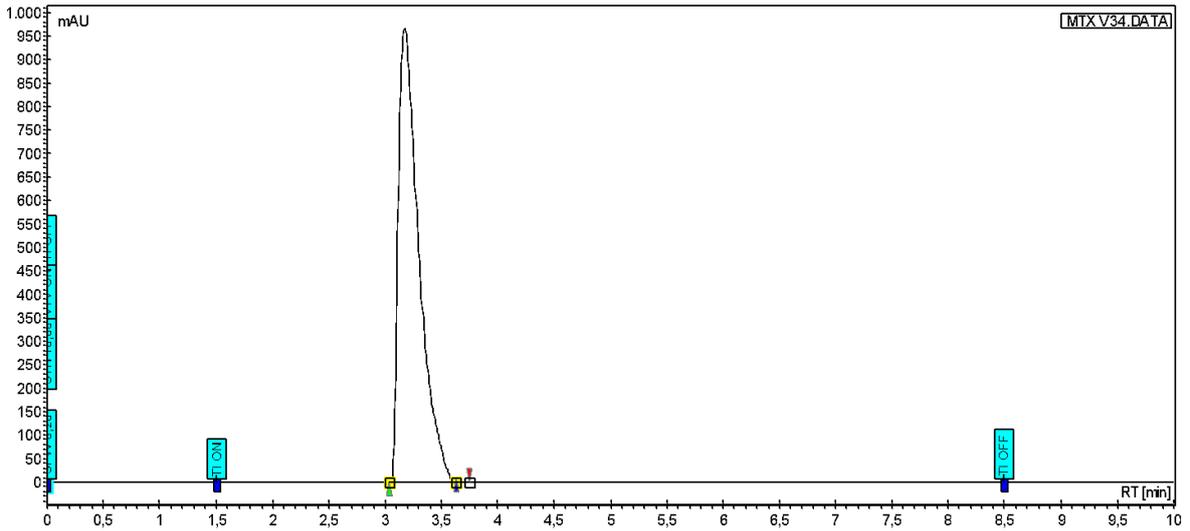


Figura 74. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.5 h

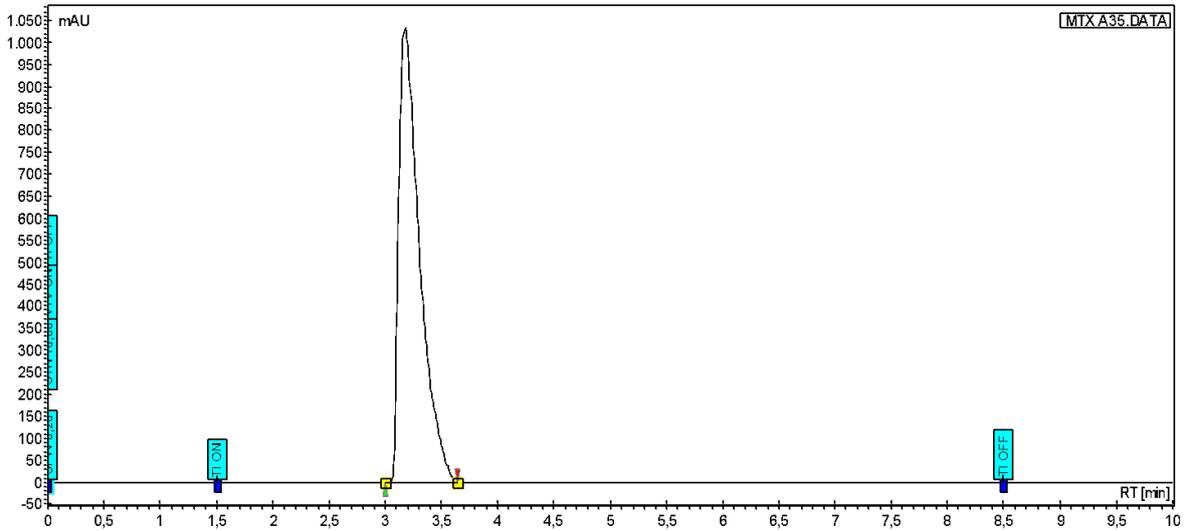


Figura 75. MTX bolsa Flebotek a 5.75 h

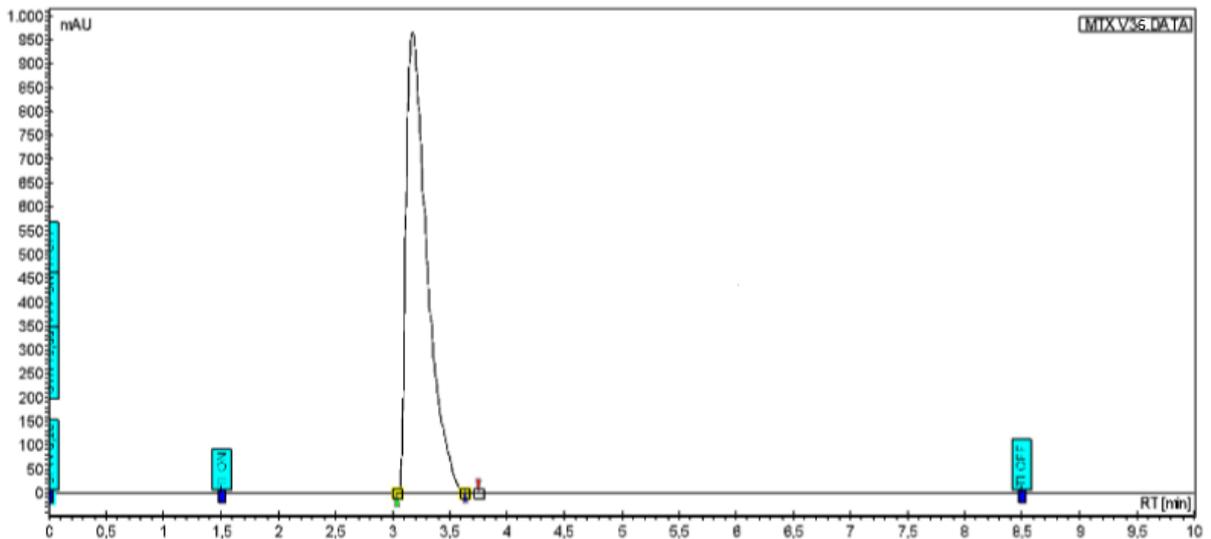


Figura 76. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.75 h

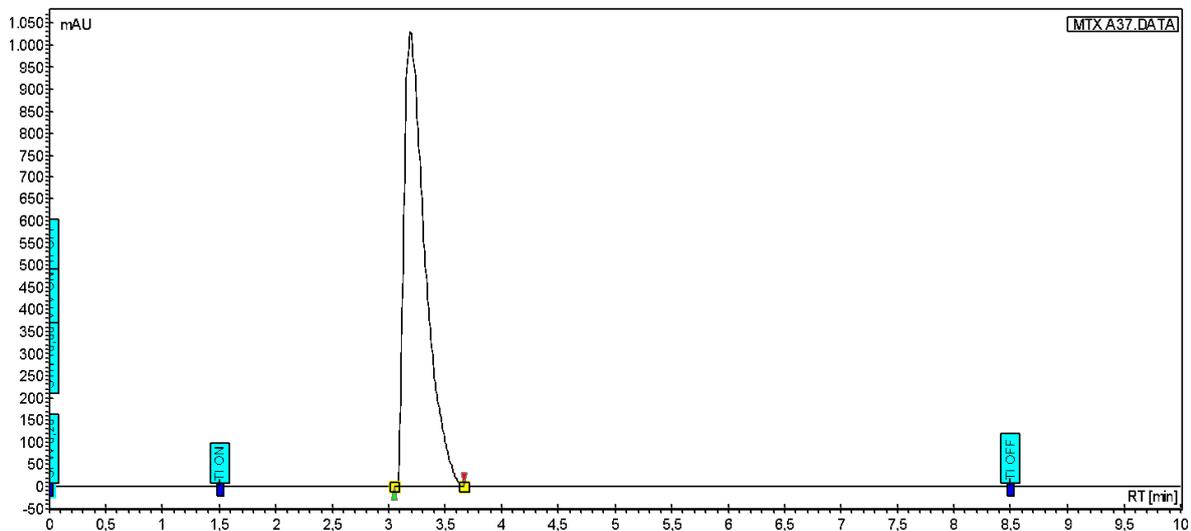


Figura 77. MTX bolsa Flebotek a 6 h

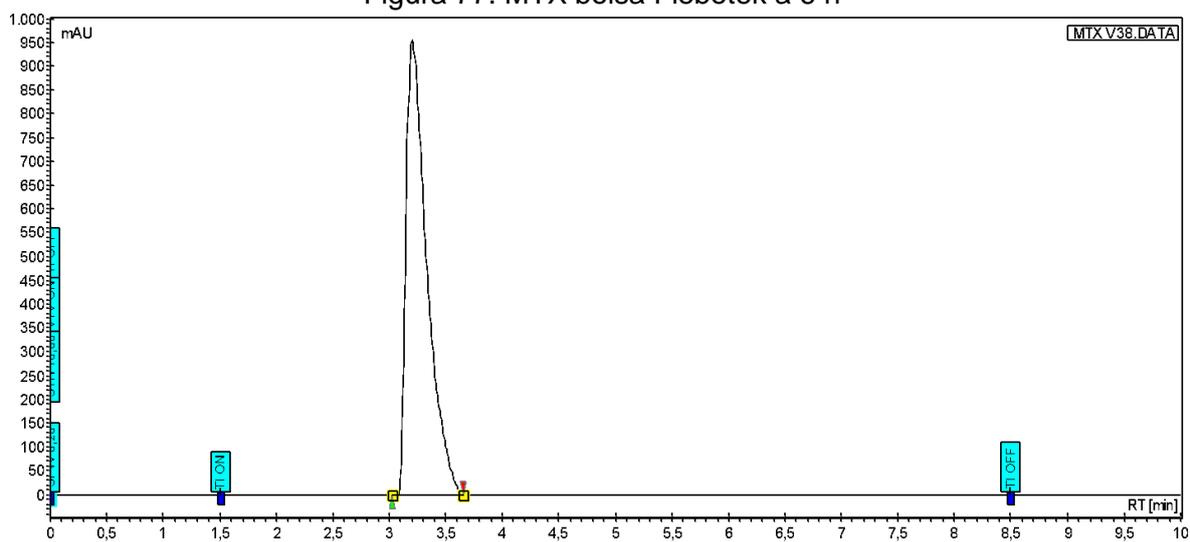


Figura 78. MTX bolsa Intrafix Primeline a 6 h

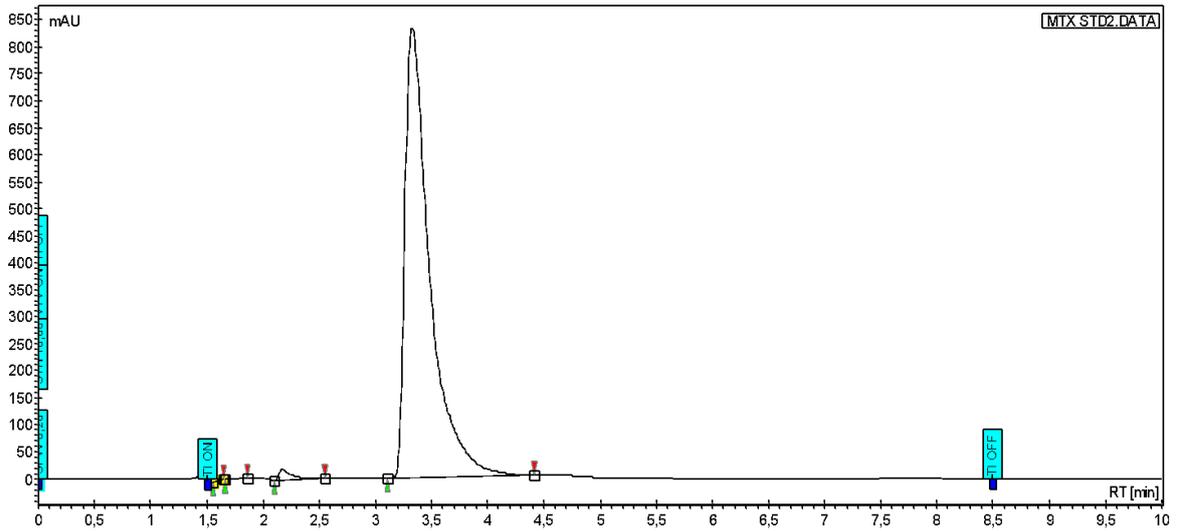


Figura 79. Estándar de Metotrexato

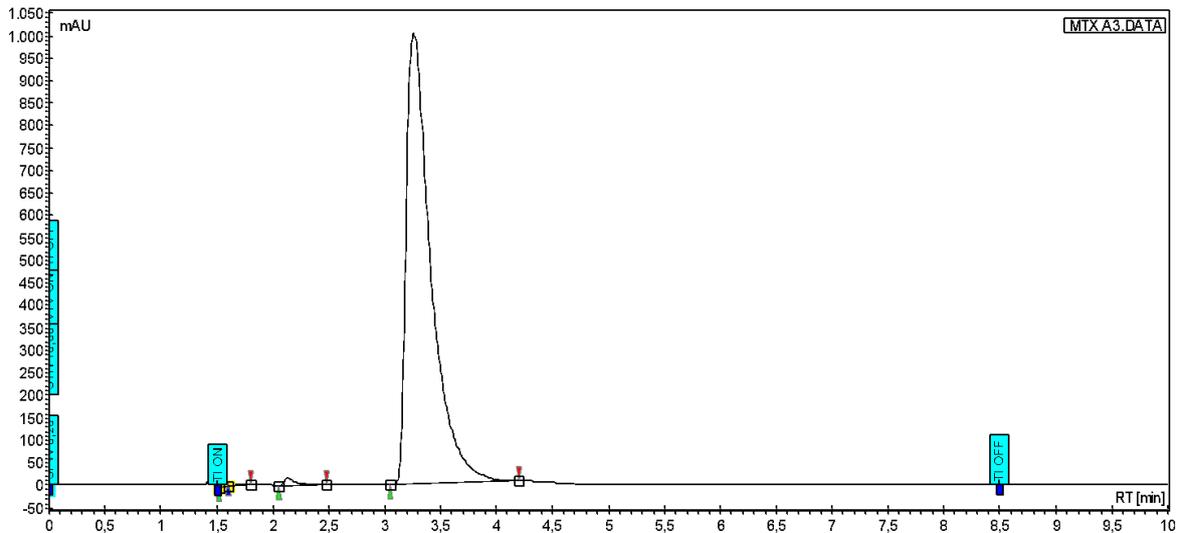


Figura 80. MTX bolsa Flebotek a 0.5 h

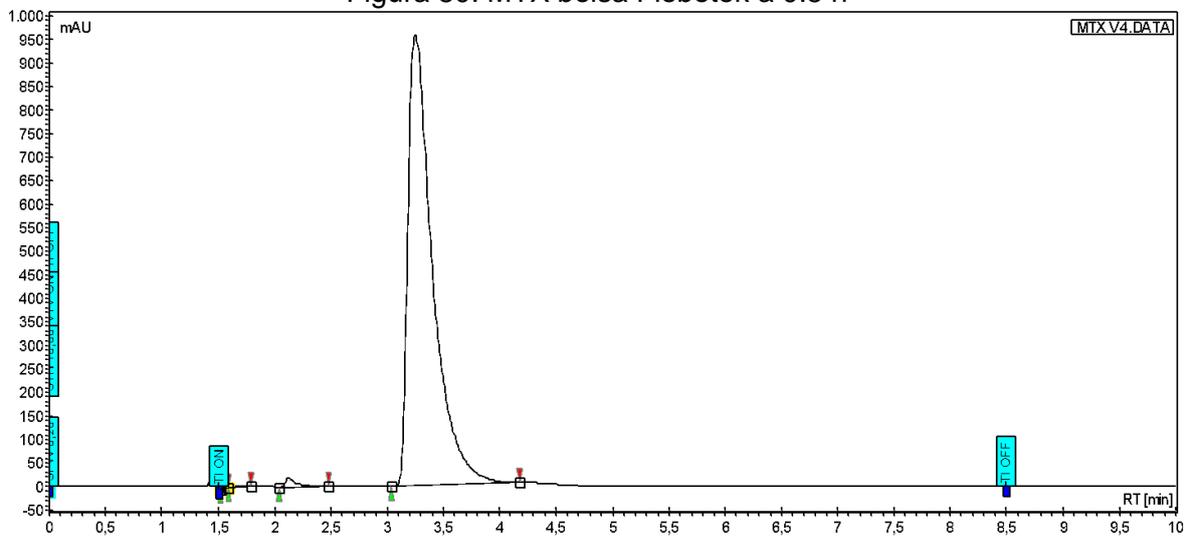


Figura 81. MTX bolsa Intrafix Primeline a 0.5 h

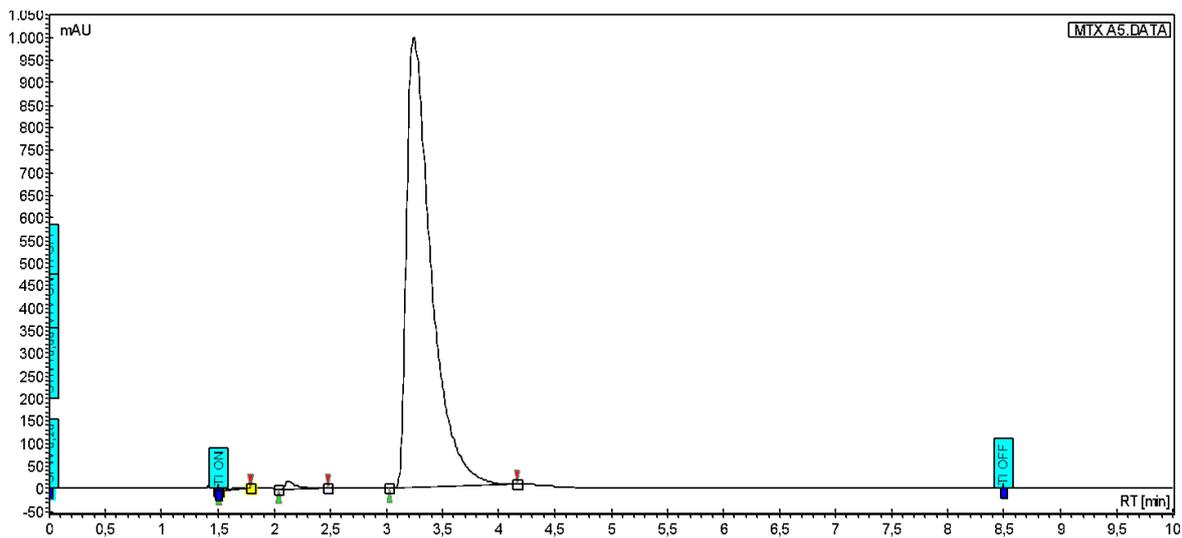


Figura 82. MTX bolsa Flebotek a 1 h

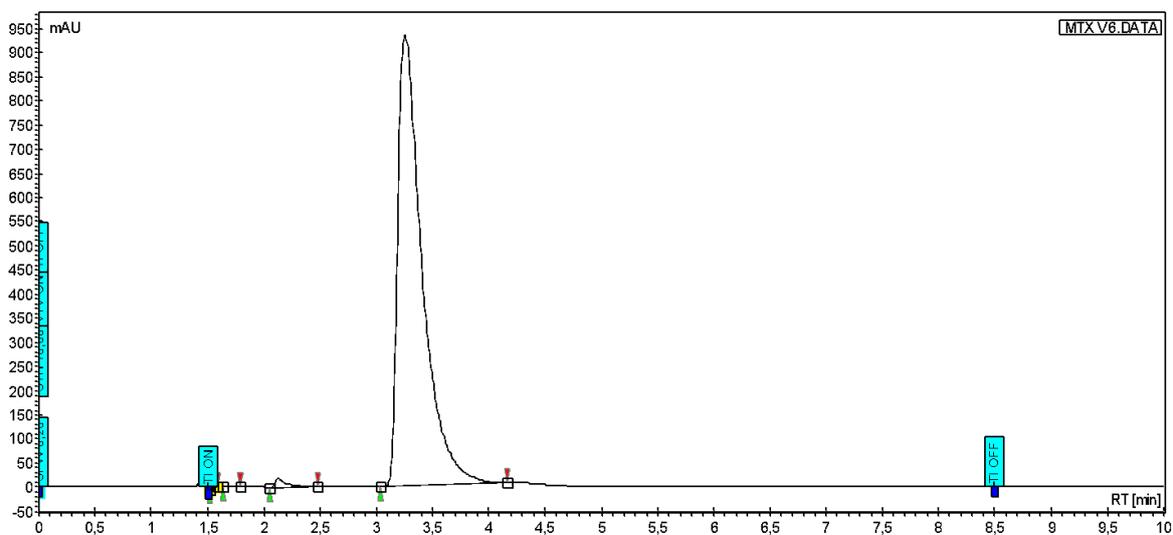


Figura 83. MTX bolsa Intrafix Primeline a 1.5 h

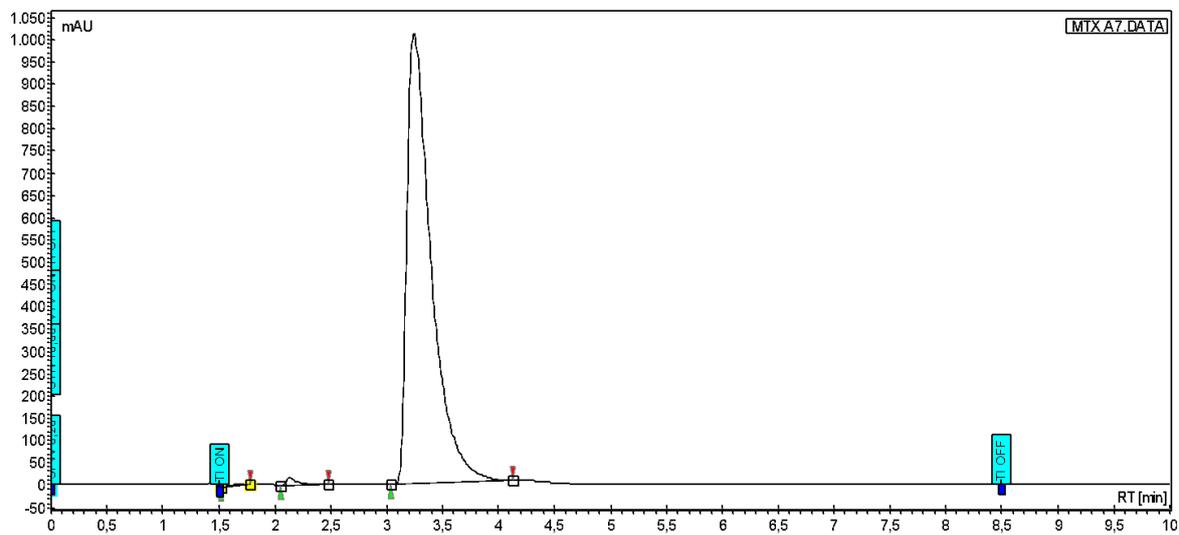


Figura 84. MTX bolsa Flebotek a 1.5 h

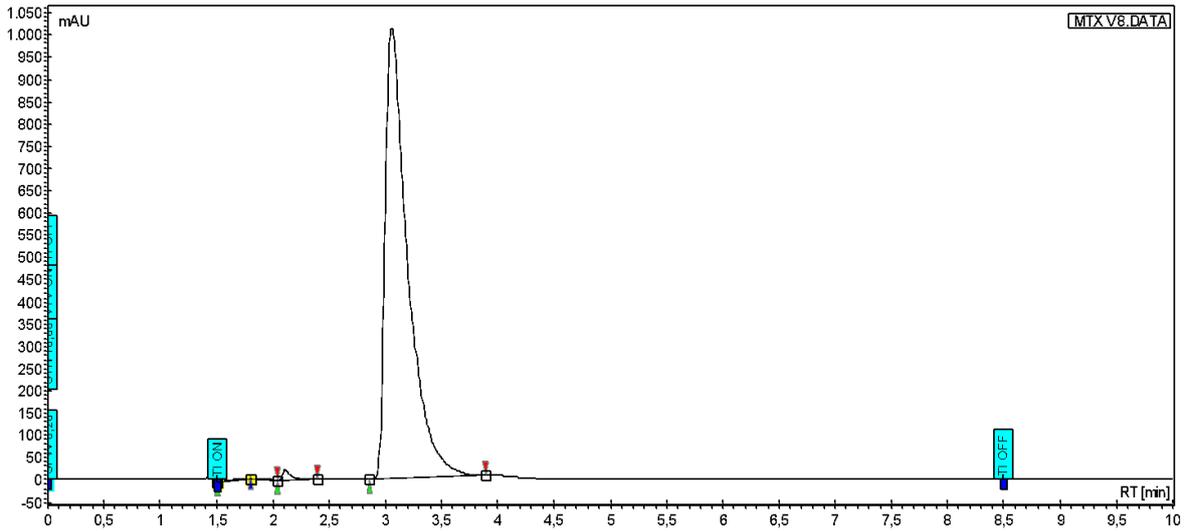


Figura 85. MTX bolsa Intrafix Primeline a 1.5 h

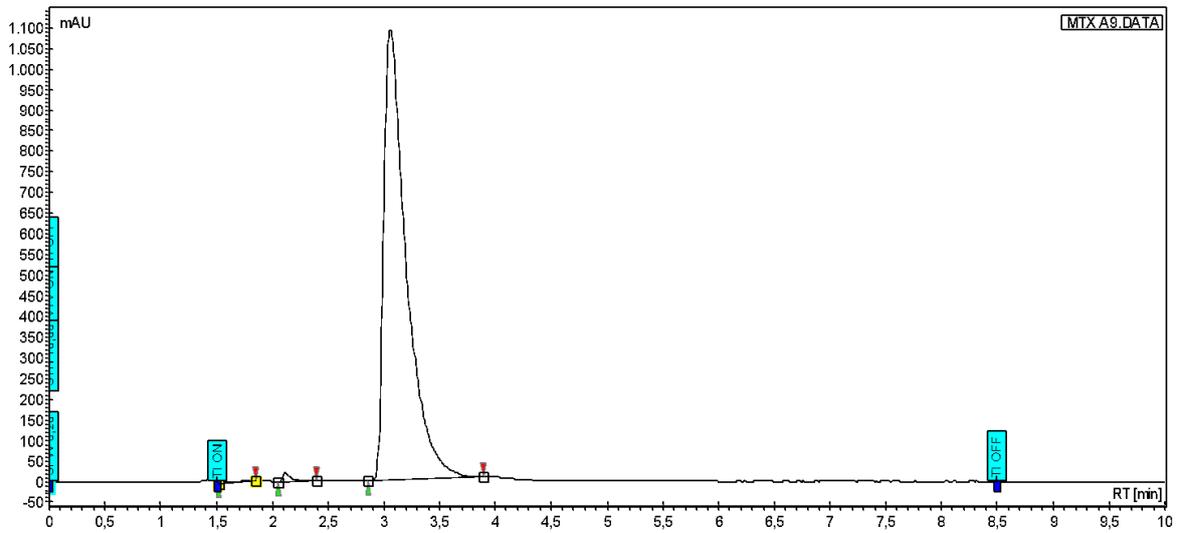


Figura 86. MTX bolsa Flebotek a 2 h

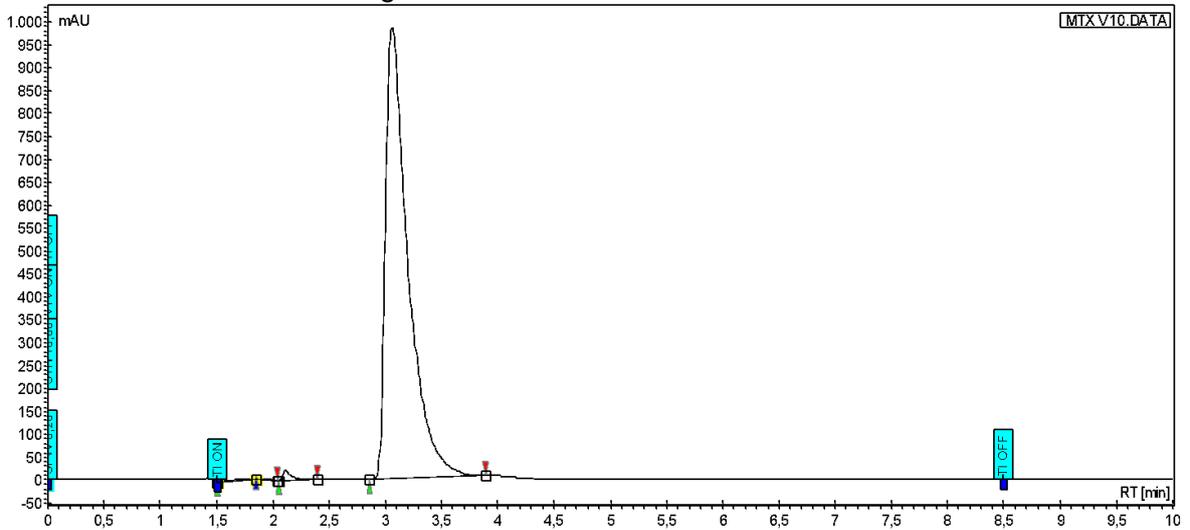


Figura 87. MTX bolsa Intrafix Primeline a 2 h

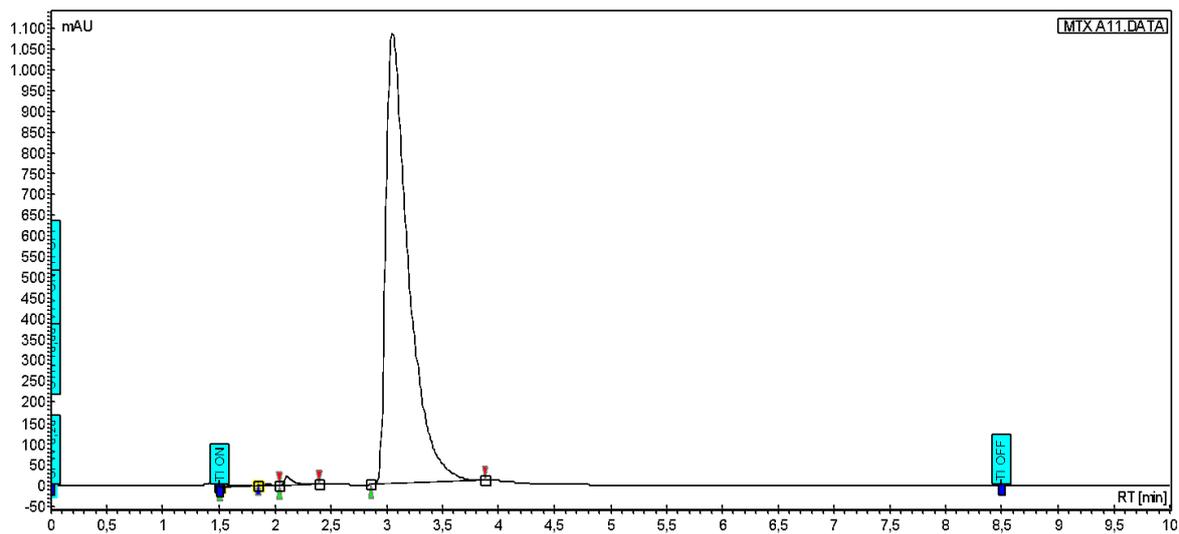


Figura 88. MTX bolsa Flebotek a 2.5 h

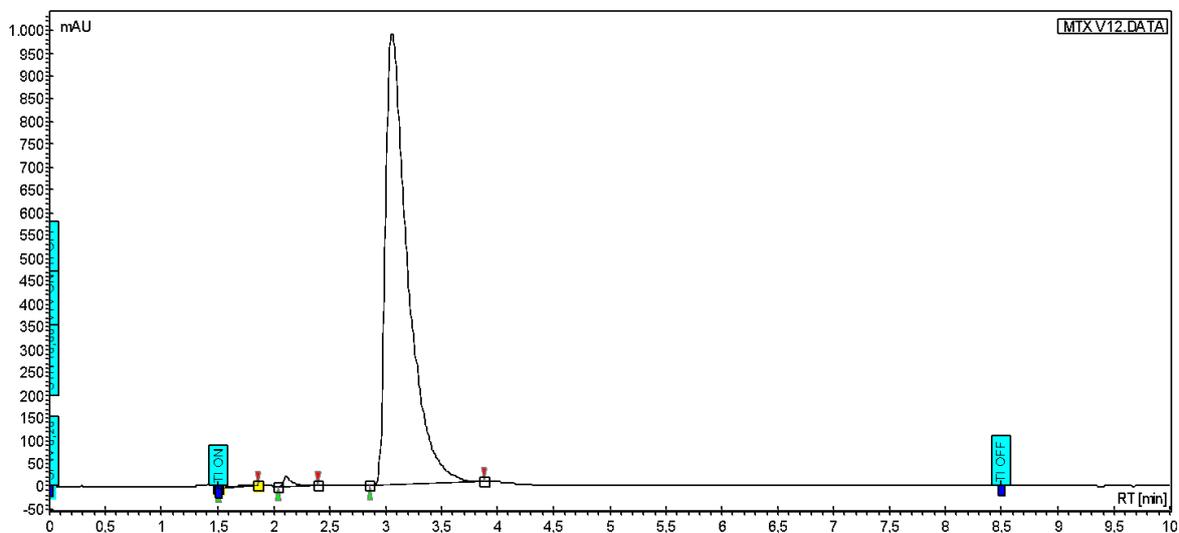


Figura 89. MTX bolsa Intrafix Primeline a 2.5 h

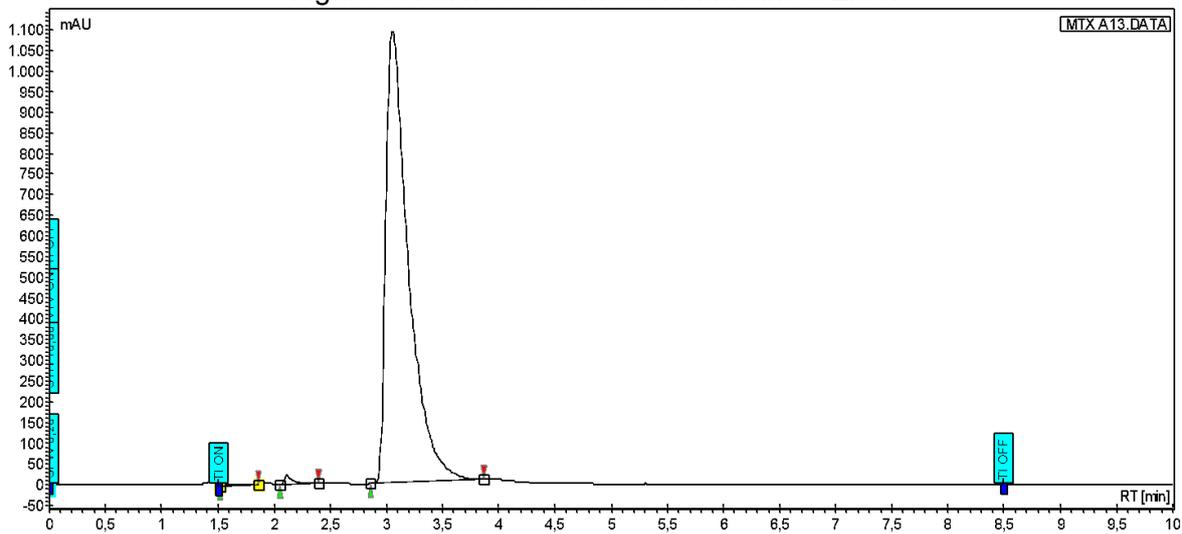


Figura 90. MTX bolsa Flebotek a 3 h

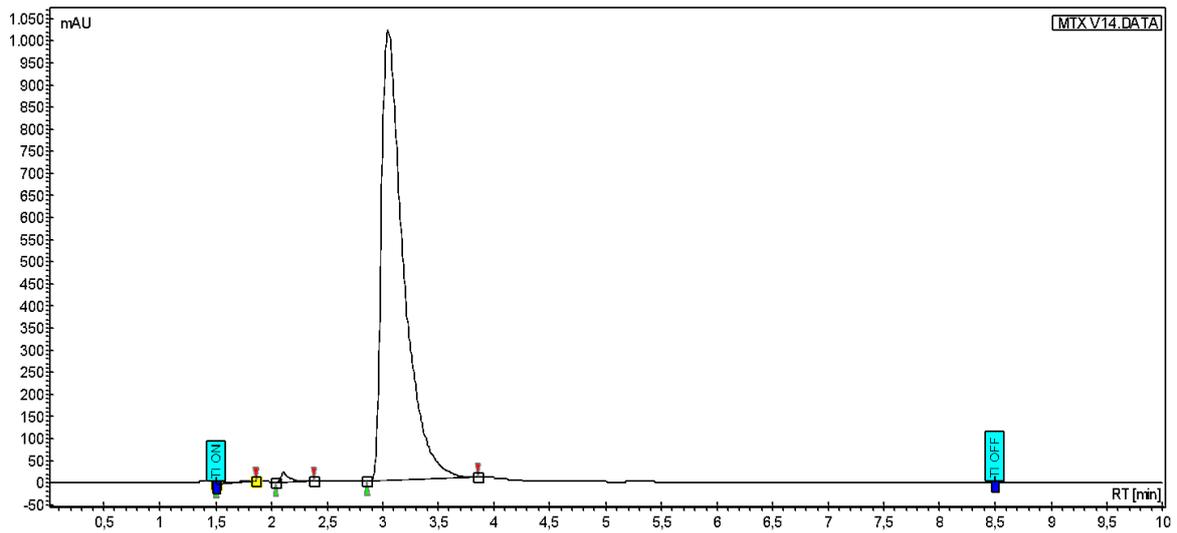


Figura 91. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3 h

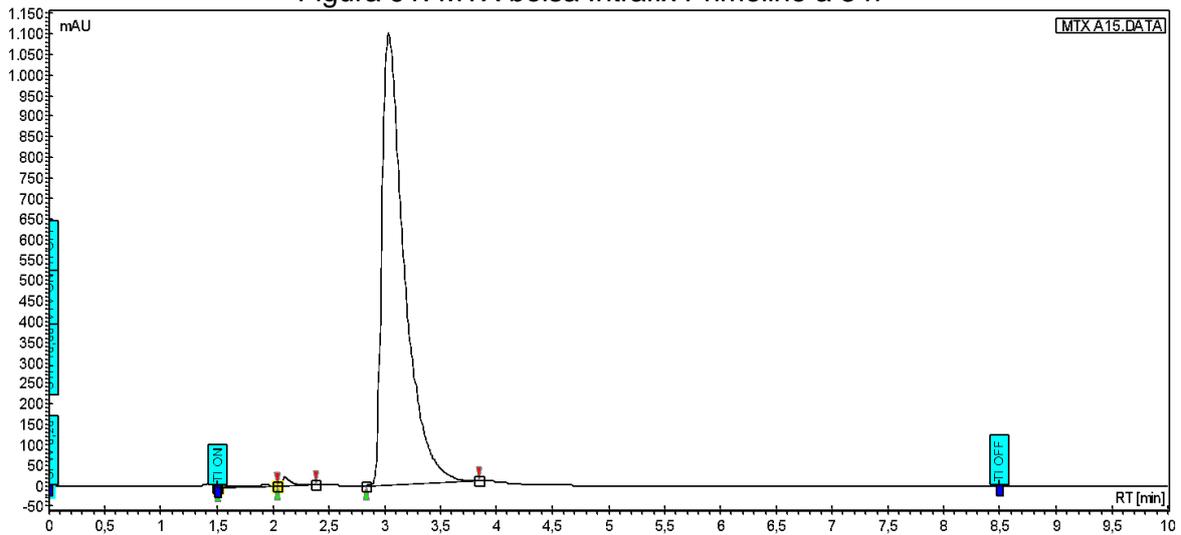


Figura 92. MTX bolsa Flebotek a 3.25 h

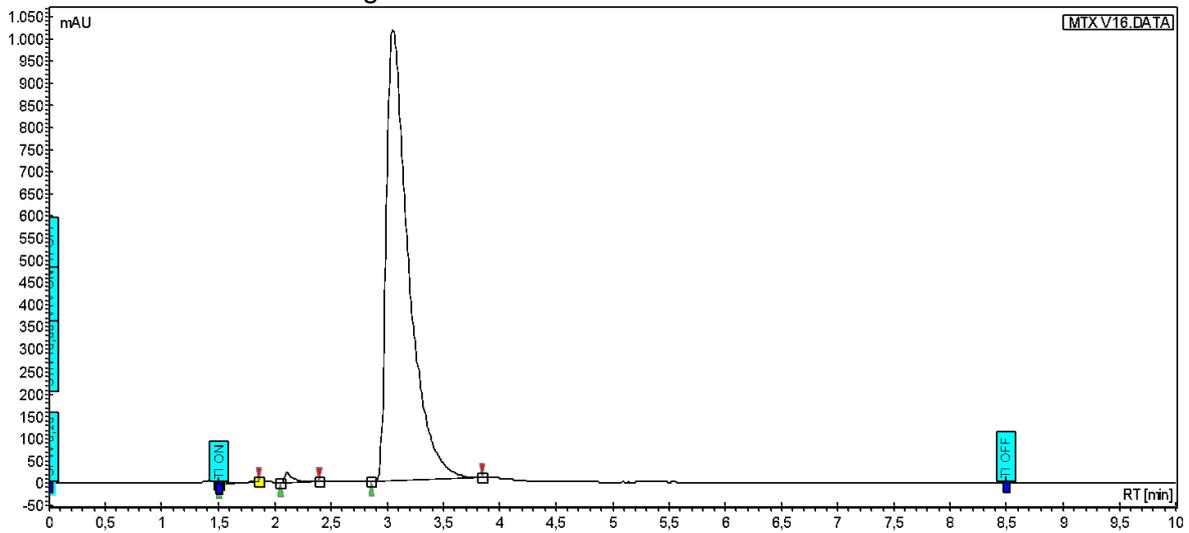


Figura 93. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.25 h

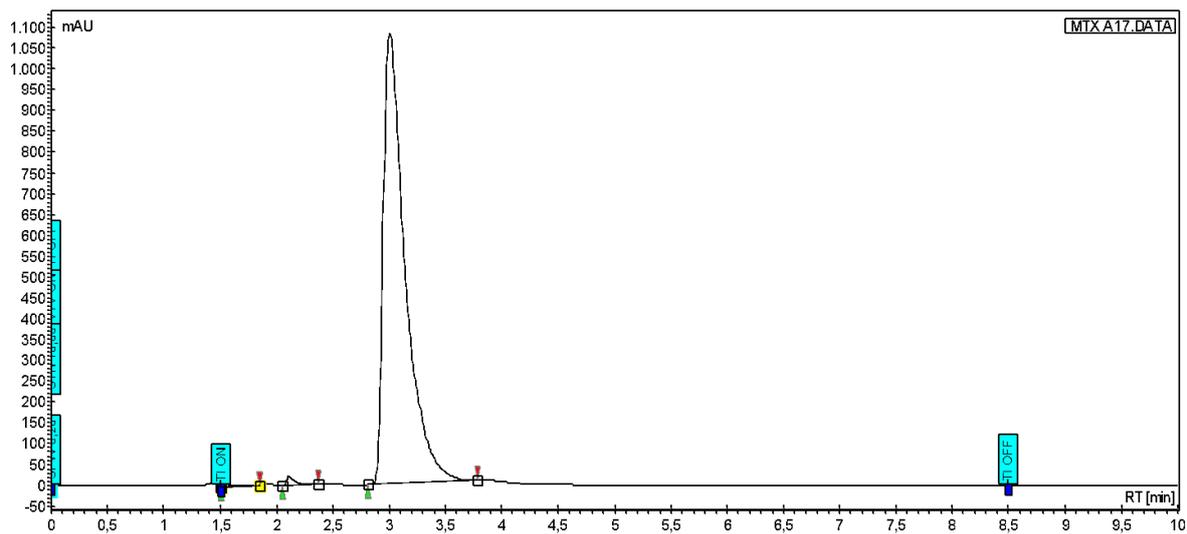


Figura 94. MTX bolsa Flebotek a 3.5 h

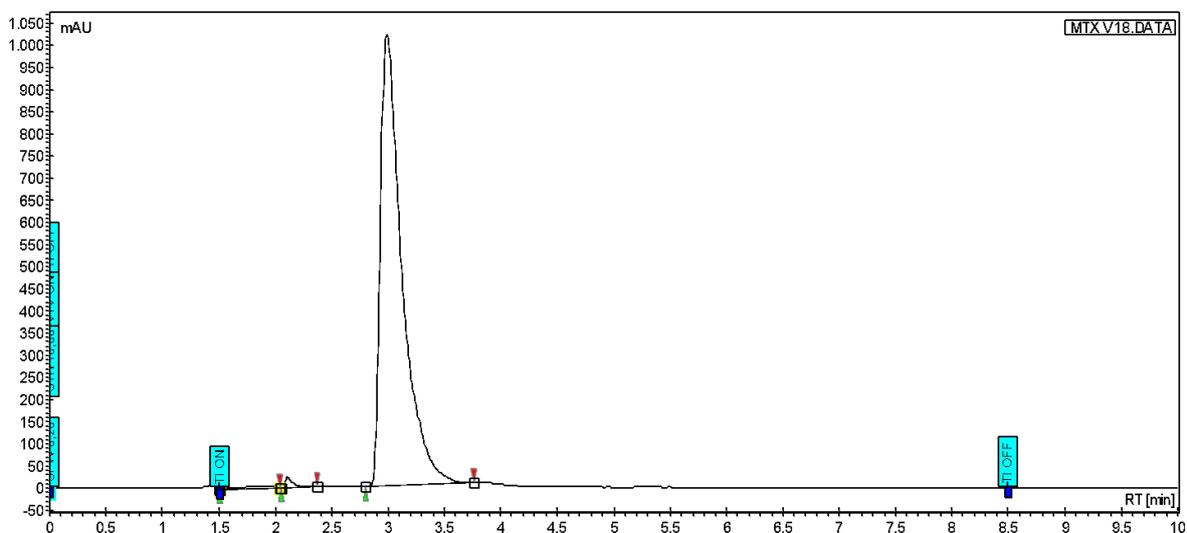


Figura 95. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.5 h

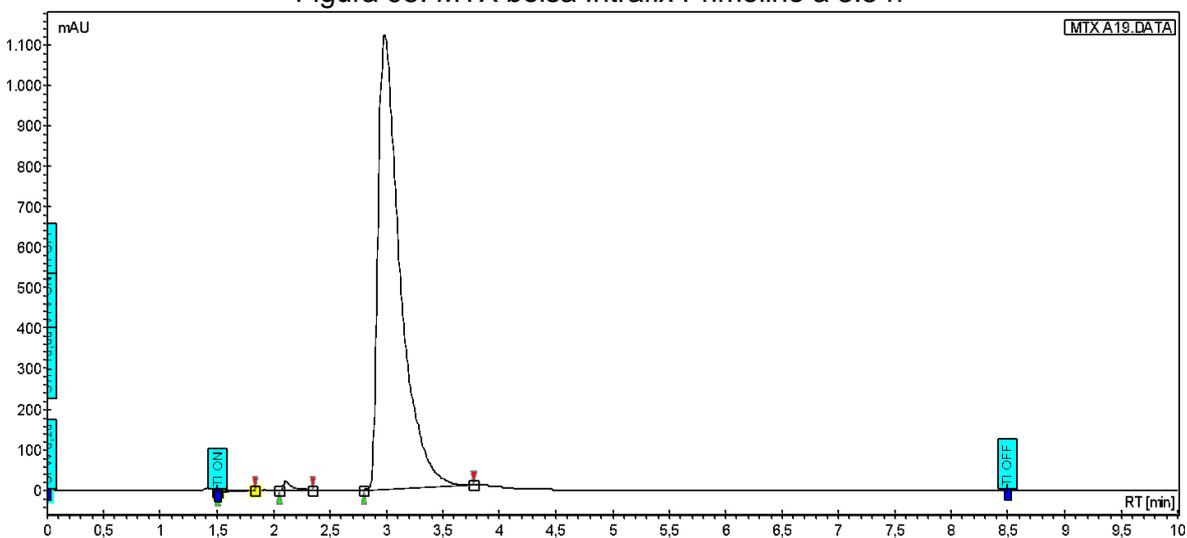


Figura 96. MTX bolsa Flebotek a 3.75 h

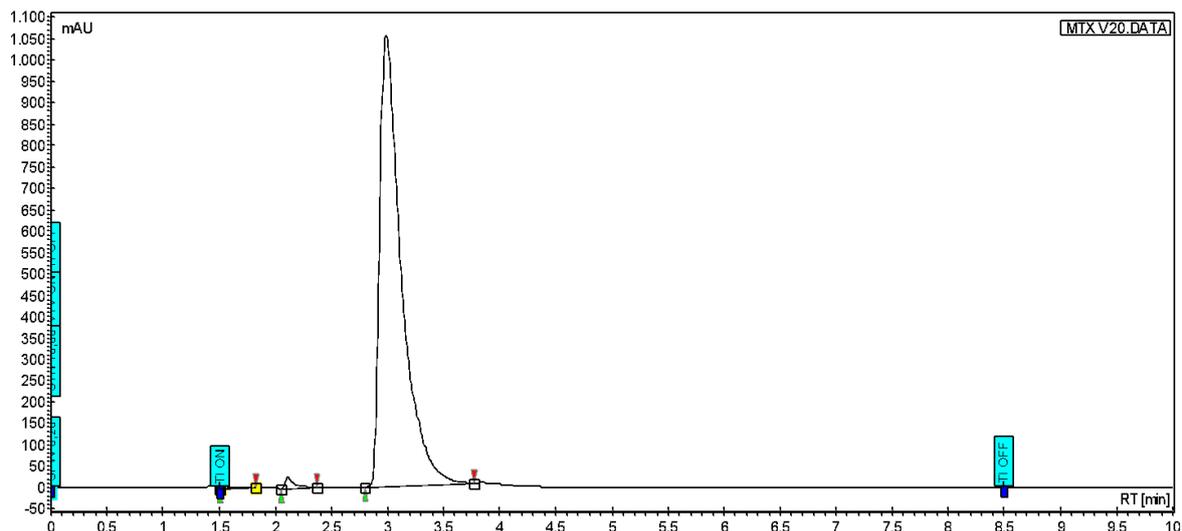


Figura 97. MTX bolsa Intrafix Primeline a 3.75 h

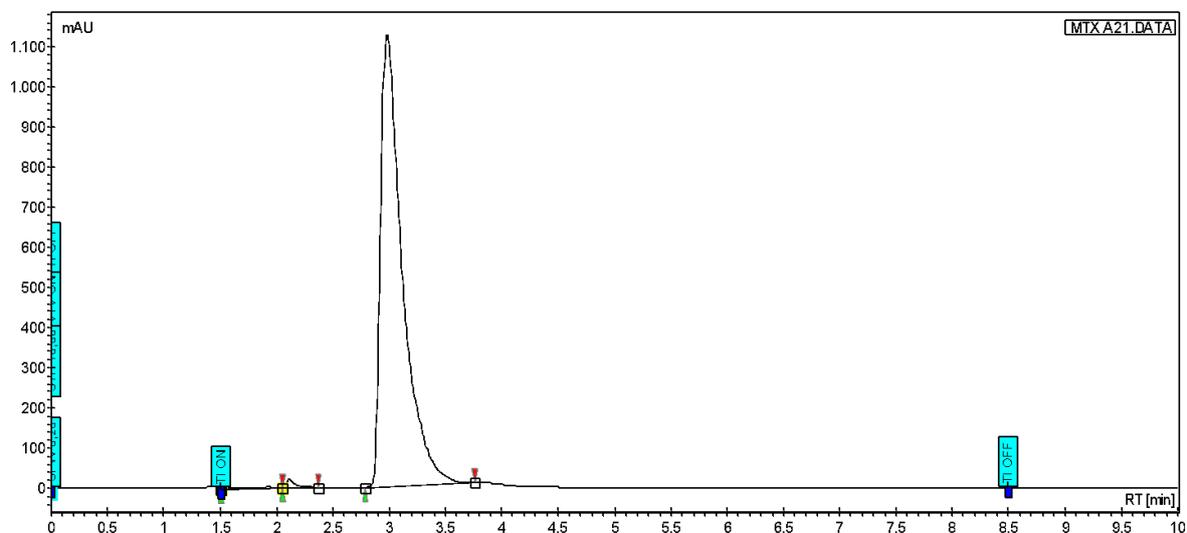


Figura 98. MTX bolsa Flebotek a 4 h

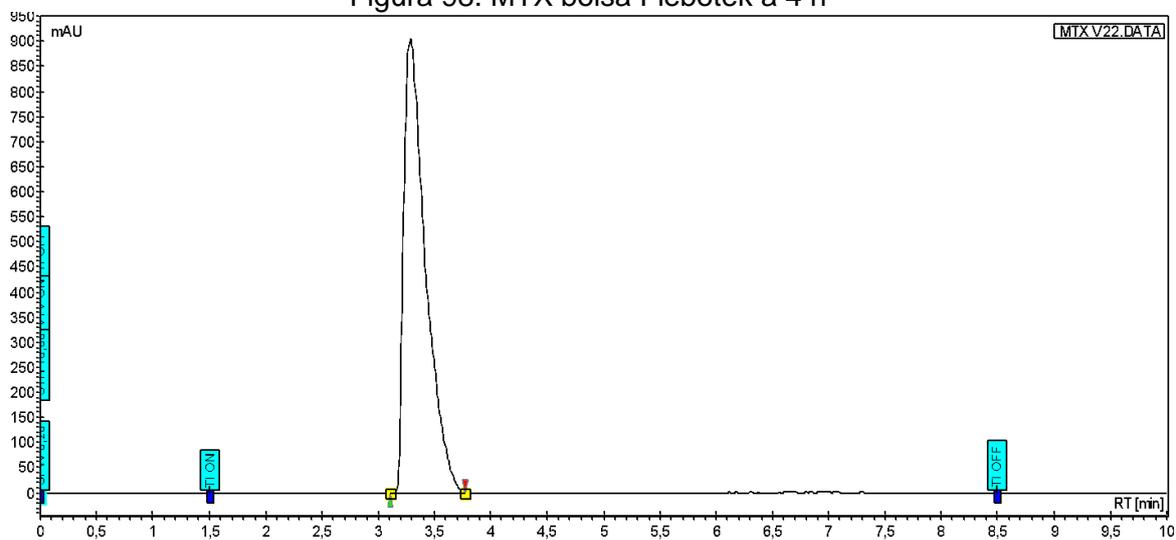


Figura 99. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4 h

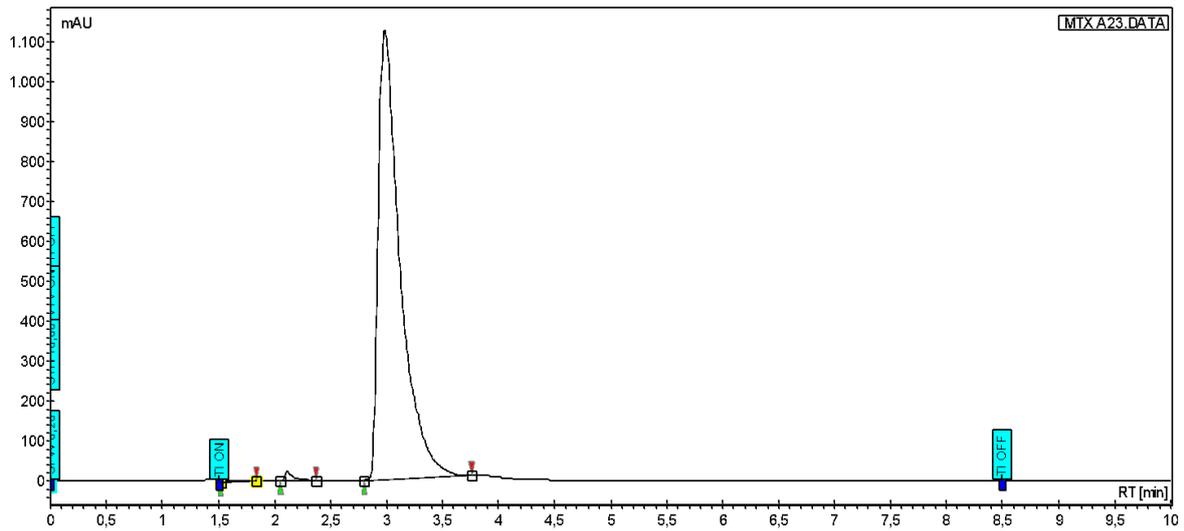


Figura 100. MTX bolsa Flebotek a 4.25 h

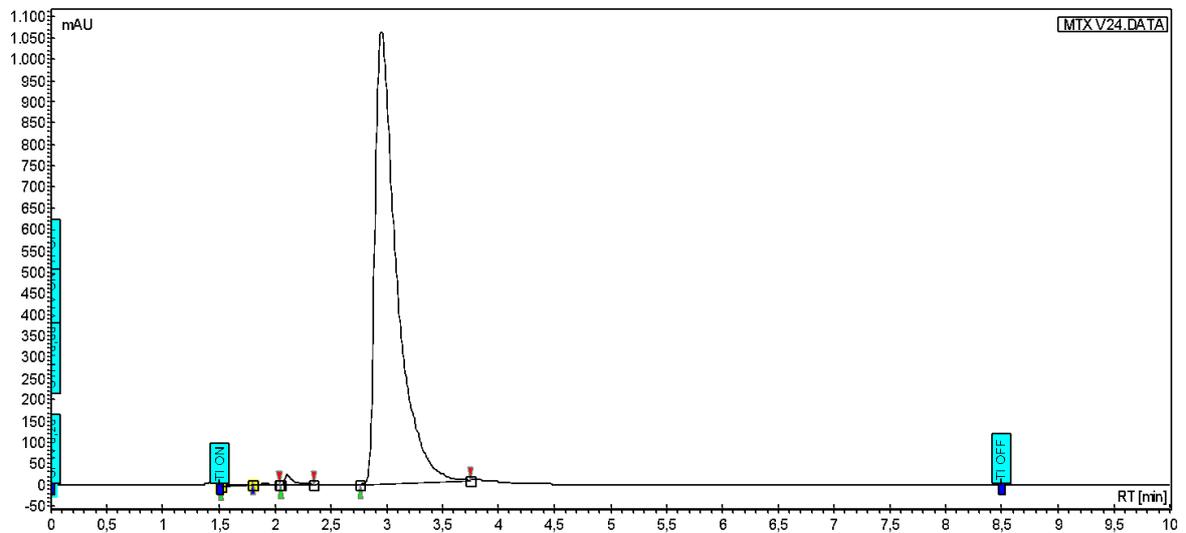


Figura 101. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.25 h

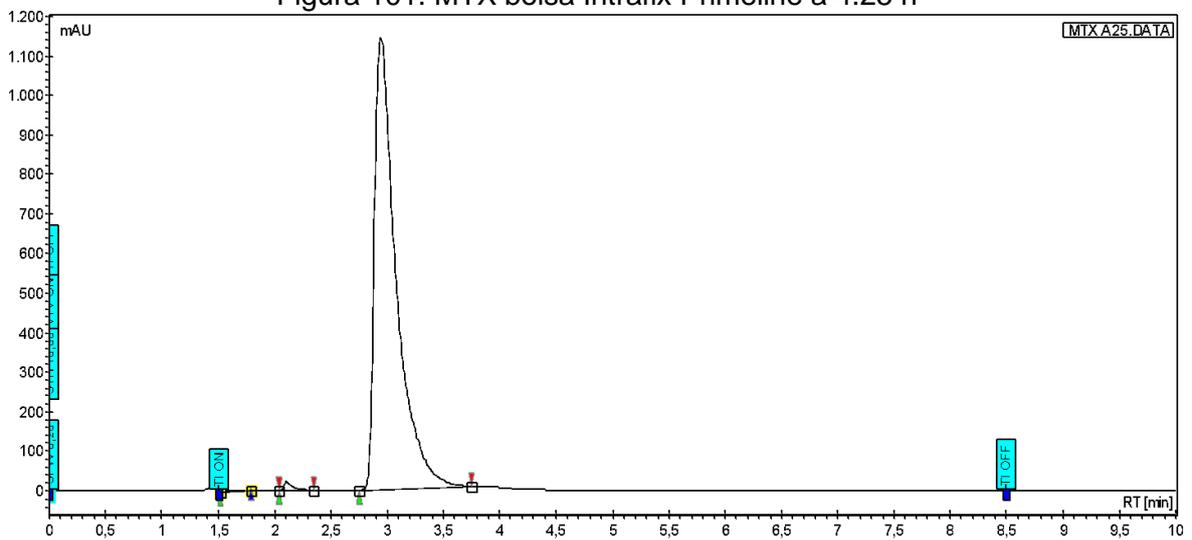


Figura 102. MTX bolsa Flebotek a 4.5 h

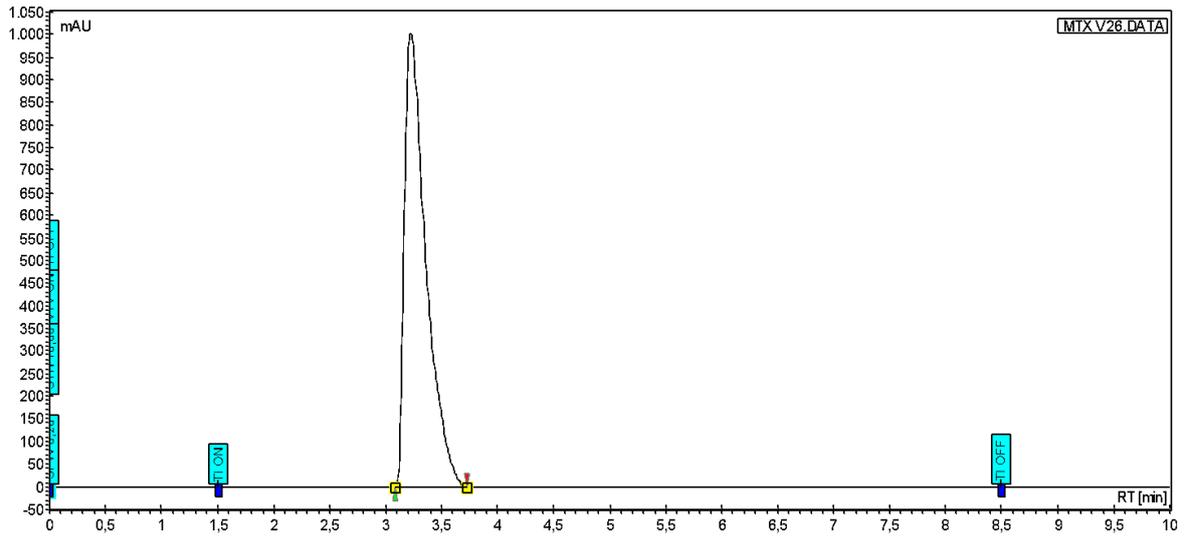


Figura 103. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.5 h

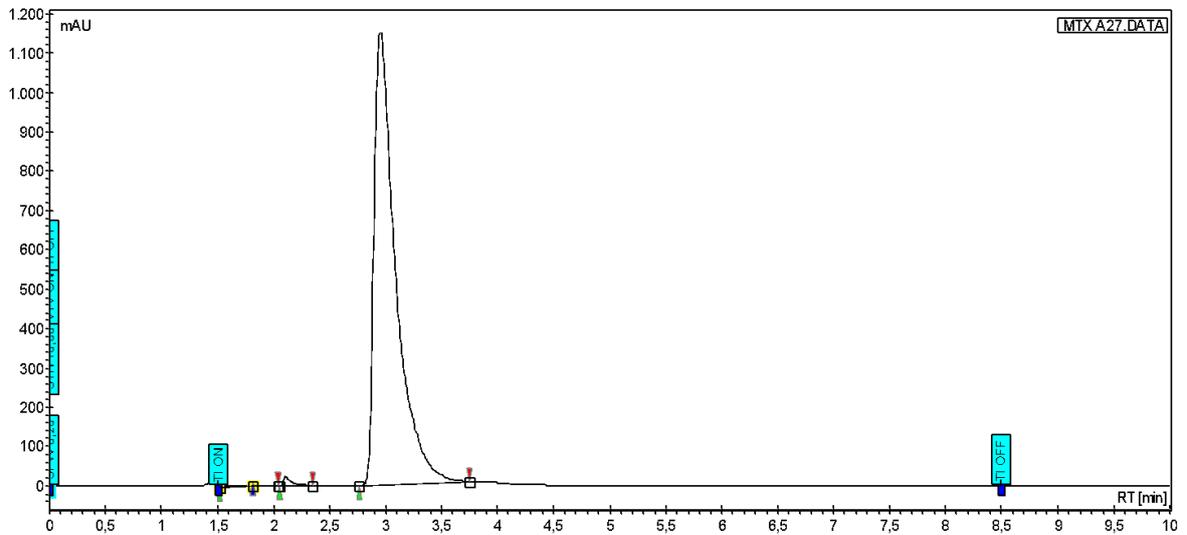


Figura 104. MTX bolsa Flebotek a 4.75 h

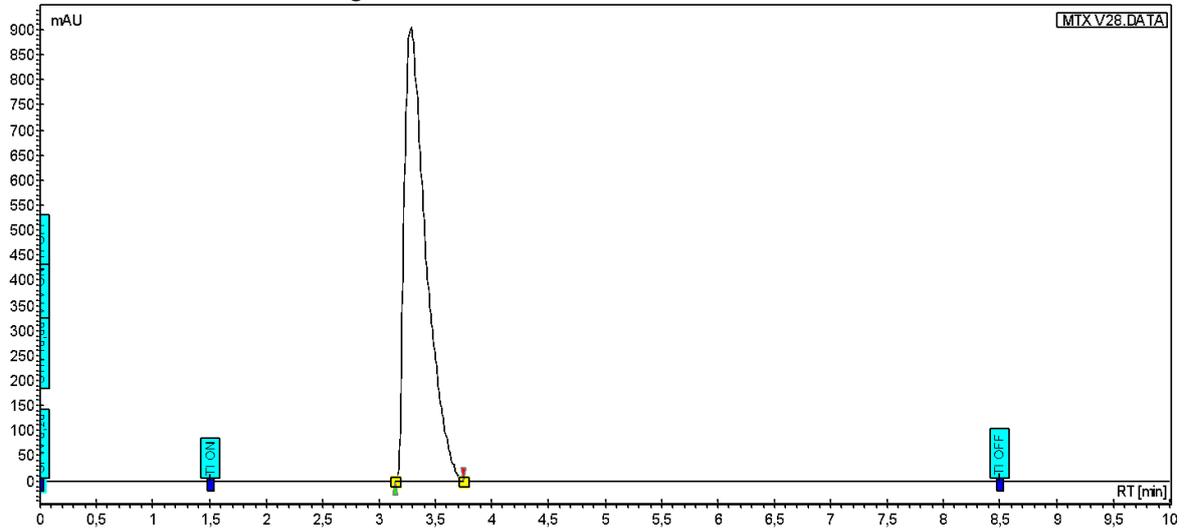


Figura 105. MTX bolsa Intrafix Primeline a 4.75 h

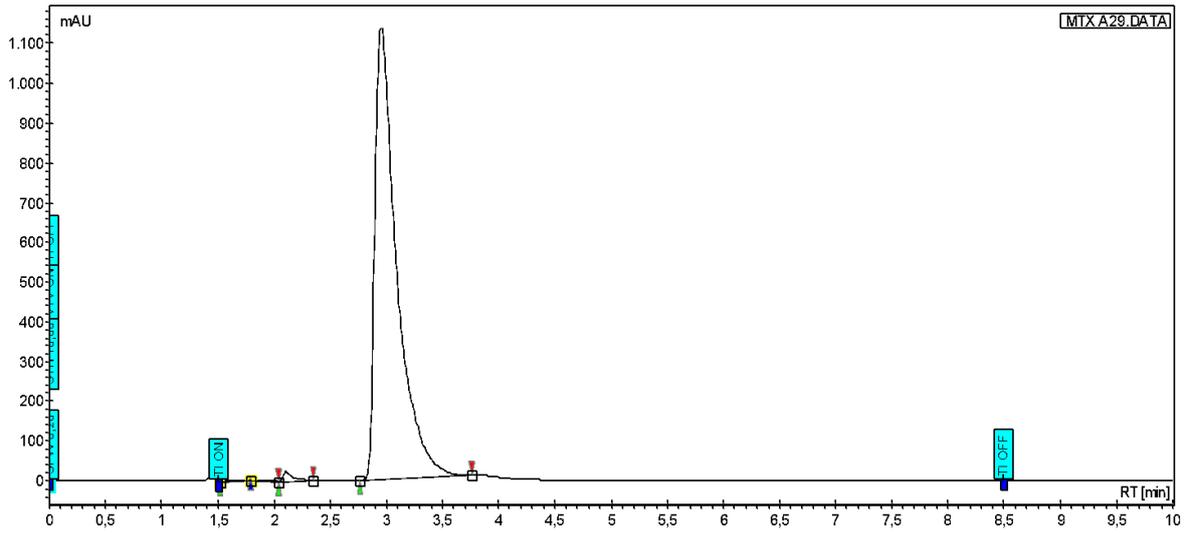


Figura 106. MTX bolsa Flebotek a 5 h

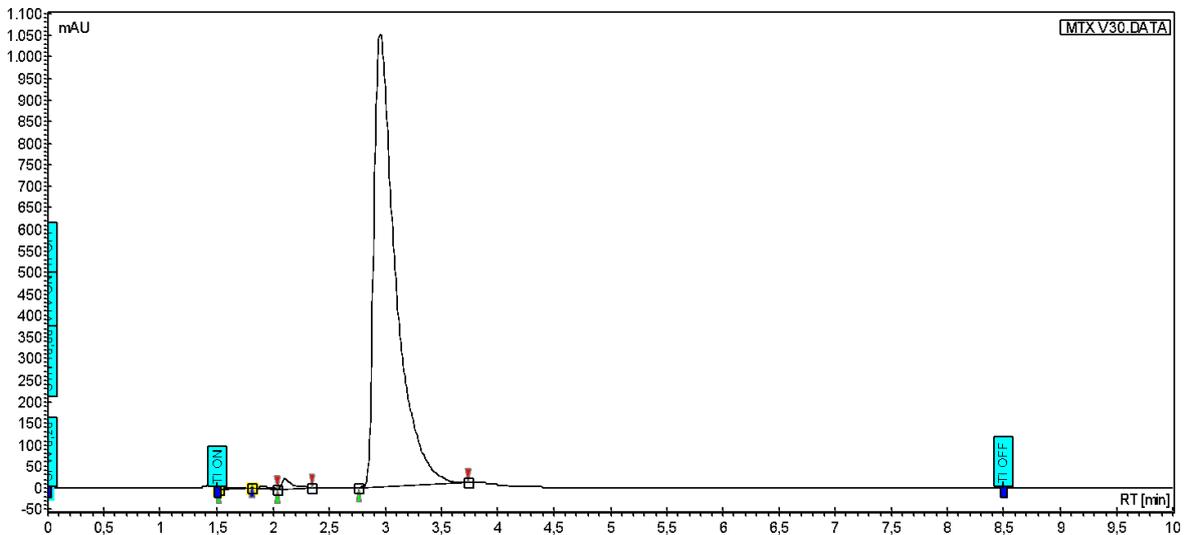


Figura 107. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5 h

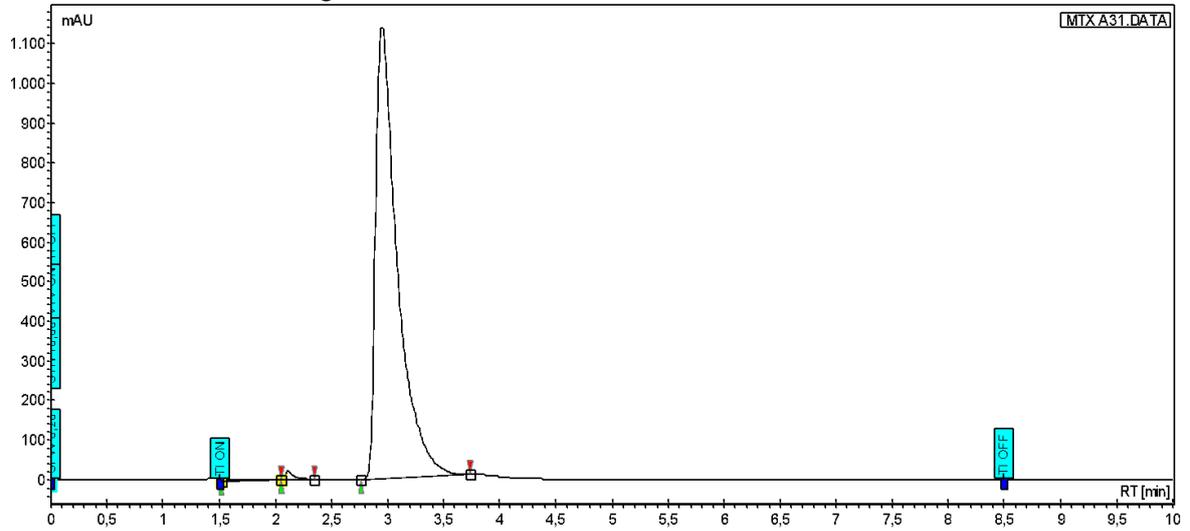


Figura 108. MTX bolsa Flebotek a 5.25 h

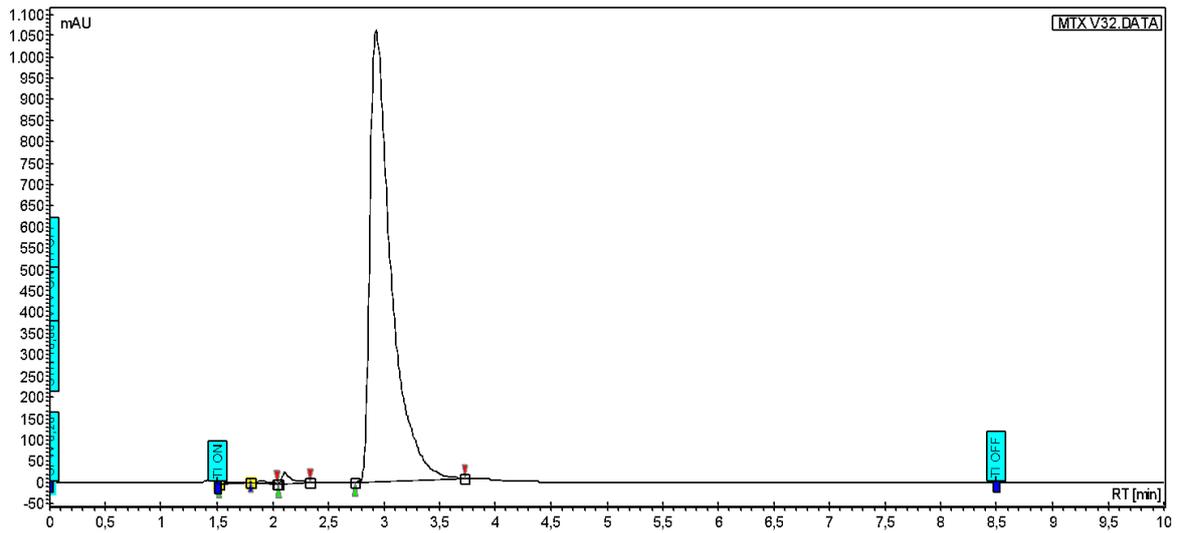


Figura 109. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.25 h

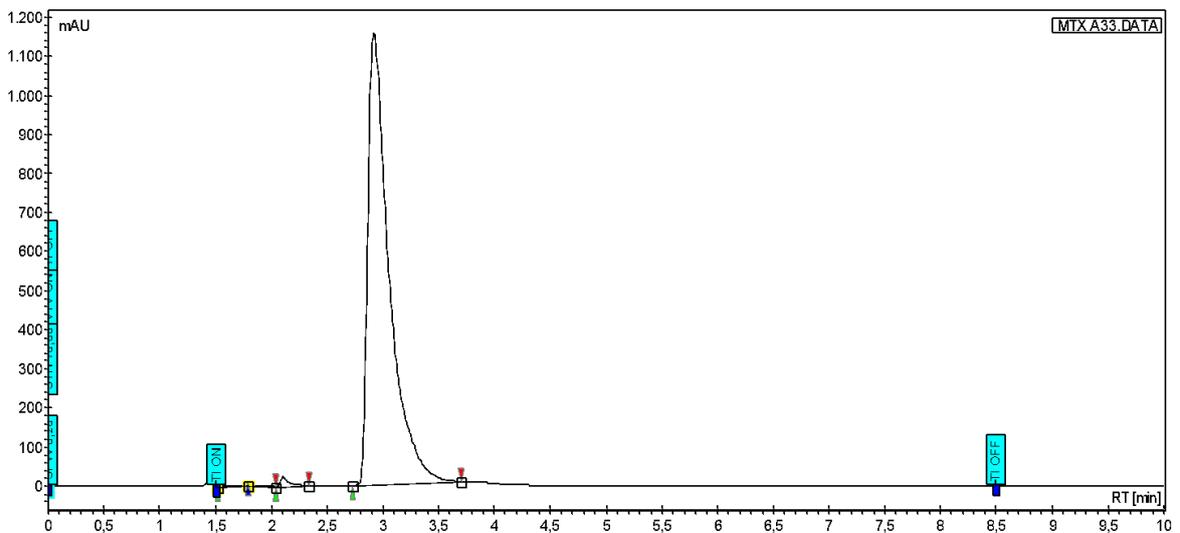


Figura 110. MTX bolsa Flebotek a 5.5 h

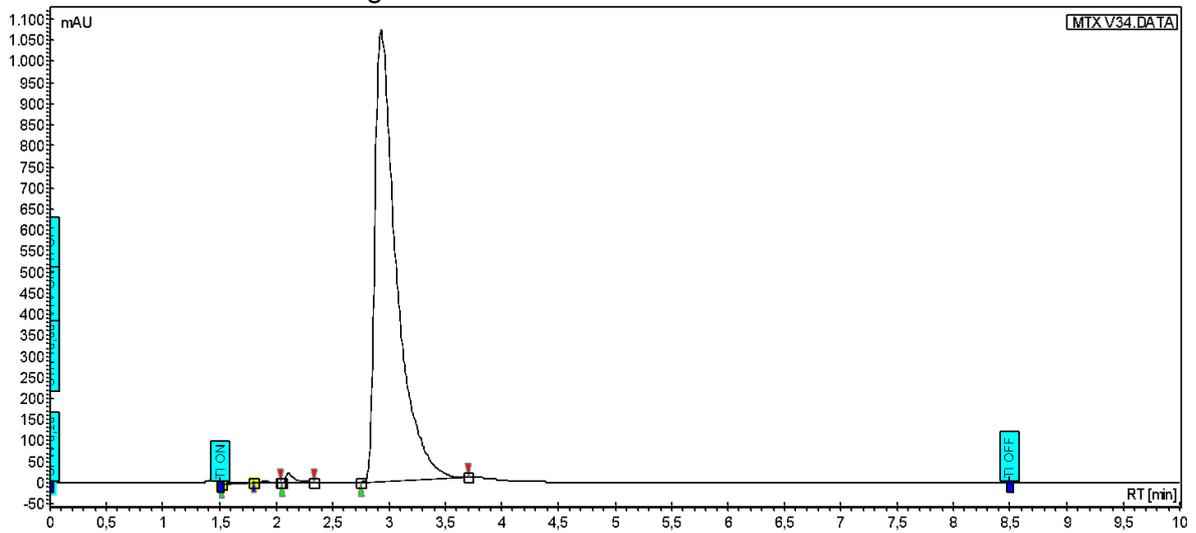


Figura 111. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.5 h

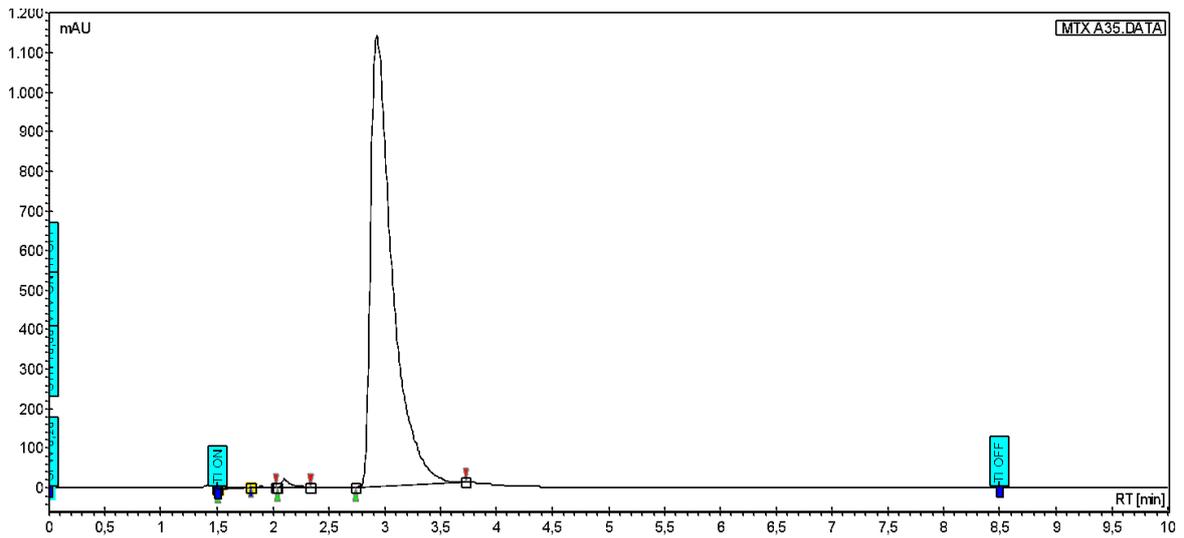


Figura 112. MTX bolsa Flebotek a 5.75 h

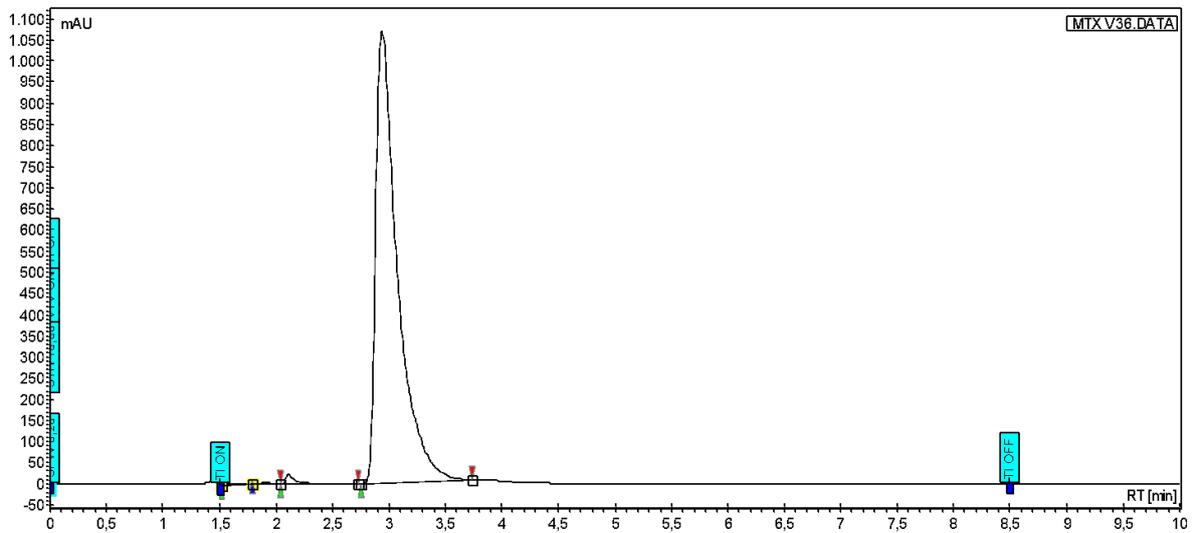


Figura 113. MTX bolsa Intrafix Primeline a 5.75 h

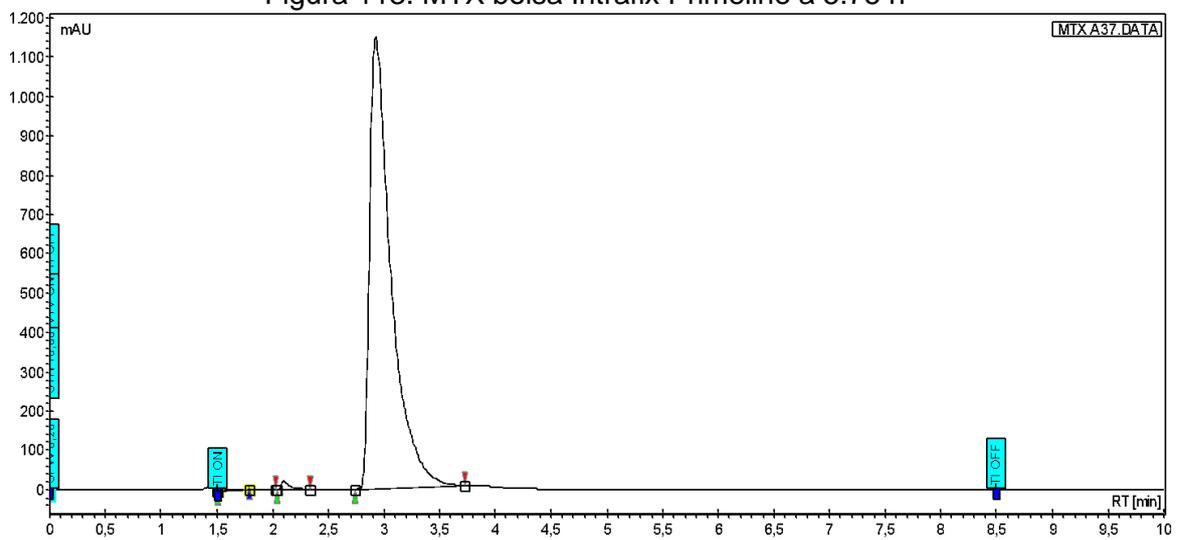


Figura 114. MTX bolsa Flebotek 6 h

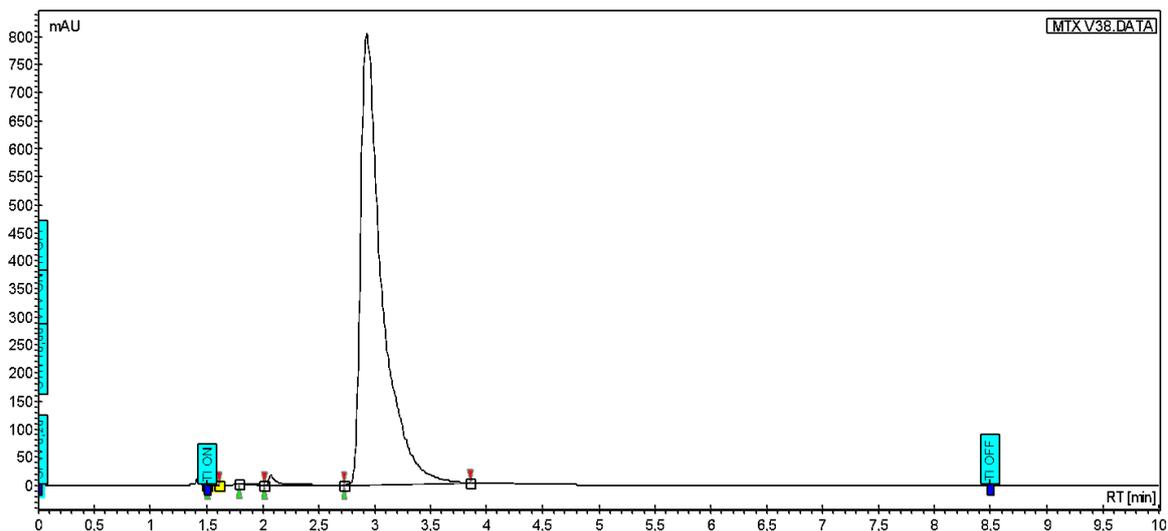


Figura 115. MTX bolsa Intrafix Primeline 6 h

Cuadro 5. Cantidad de luz en los tiempos de muestreo 22-08-23

Tiempo de muestreo	Hora	Cantidad de luz-Bolsa Flebotek (LUX)	Cantidad de lux-Bolsa Intrafix Primeline (LUX)
0 h	09:10	176.3	198.7
0.5 h	09:40	309.8	335.6
1 h	10:10	449.9	480.3
1.5 h	10:40	601.6	639.3
2 h	11:10	734.2	785.6
2.5 h	11:40	882.2	919.1
3 h	12:10	1040.0	1109.3
3.25 h	12:25	1212.3	1286.2
3.5 h	12:40	1375.0	1461.0
3.75 h	12:55	1543.2	1634.1
4 h	13:10	1711.3	1797.4
4.25 h	13:25	1891.8	1942.8
4.5 h	13:40	2060.3	2104.2
4.75 h	13:55	2232.6	2290.3
5 h	14:10	2361.3	2240.8

5.25 h	14:25	2497.7	2593.3
5.5 h	14:40	2625.6	2737.8
5.75 h	14:55	2755.8	2872.9
6 h	15:10	2911.9	3038.8

Cuadro 6. Promedio del % de MTX en inyección tomada 22-08-23

% de Metotrexato en la inyección tomada	
Flebotek	77.7159
Intrafix Primeline	78.8096

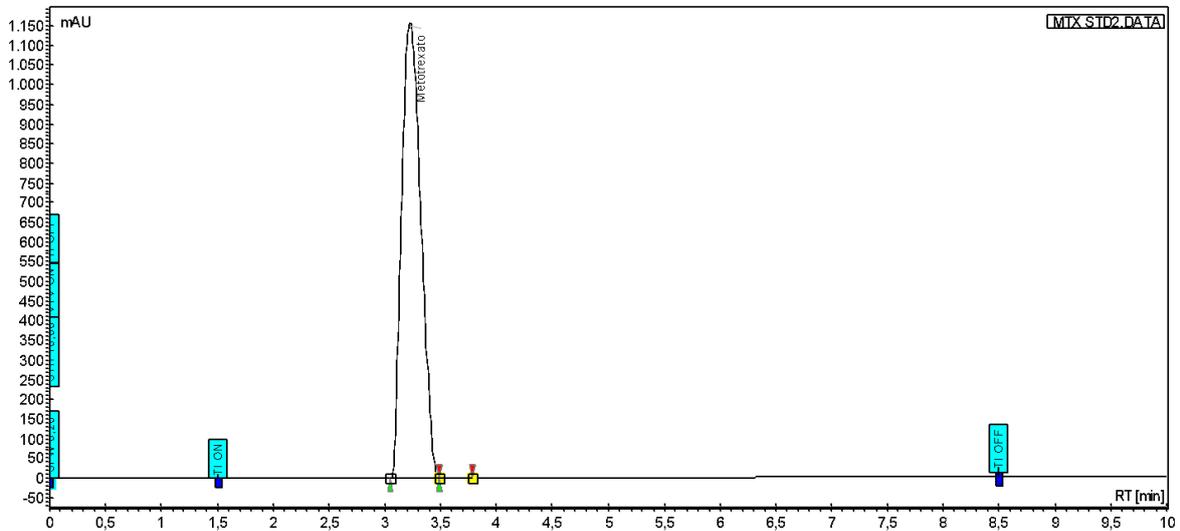


Figura 116. Estándar de Metotrexato

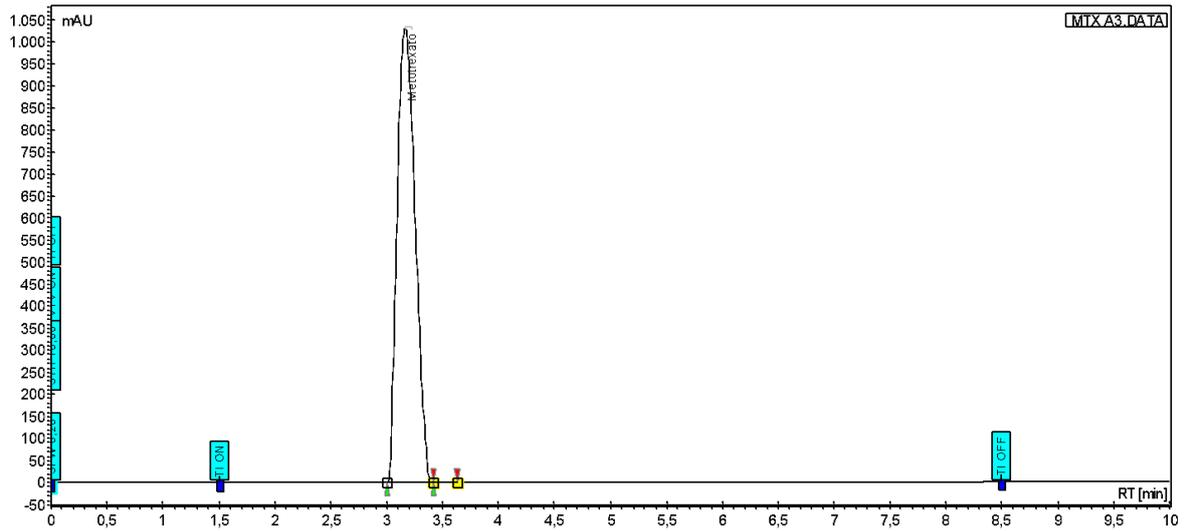


Figura 117. MTX bolsa Flebotek 0.5 h

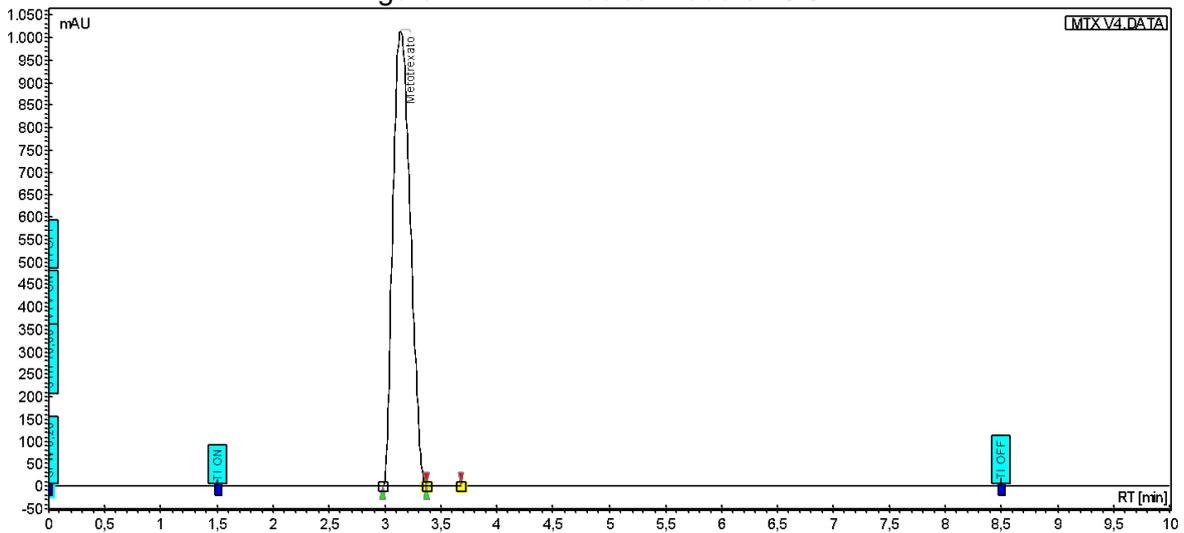


Figura 118. MTX bolsa Intrafix Primeline 0.5 h

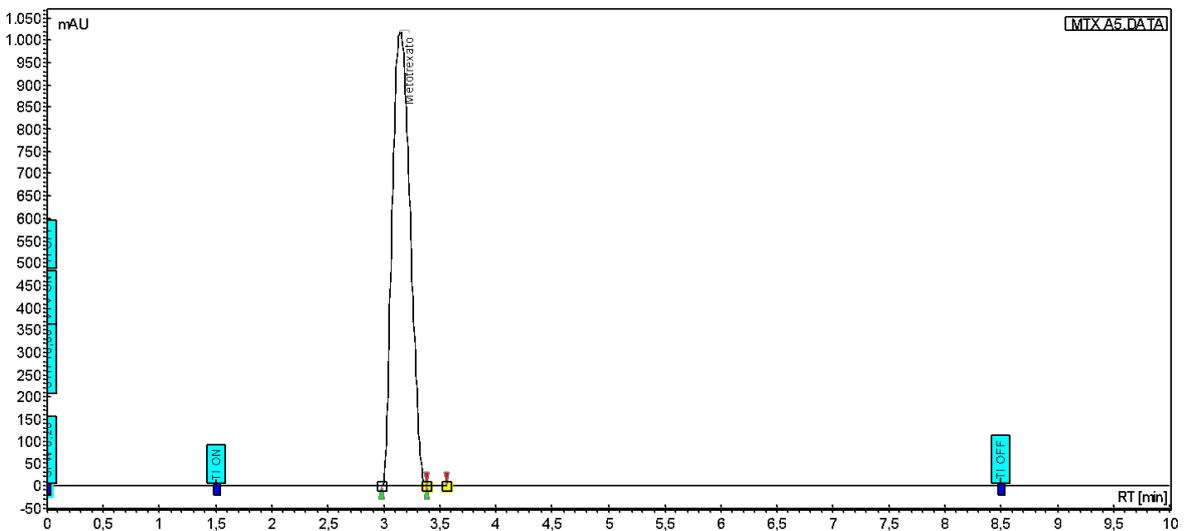


Figura 119. MTX bolsa Flebotek 1 h

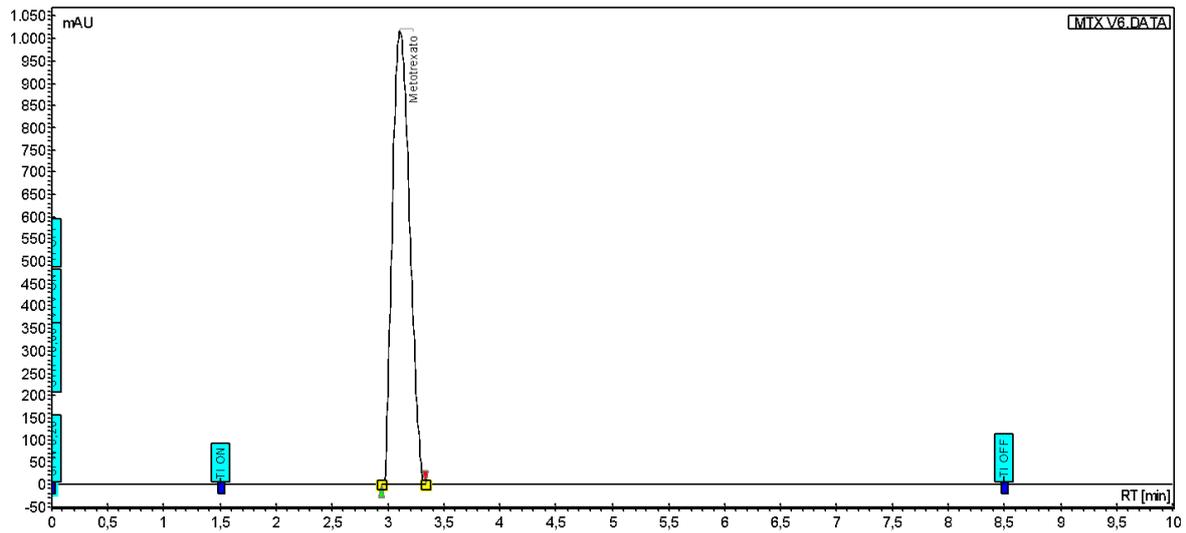


Figura 120. MTX bolsa Intrafix Primeline 1 h

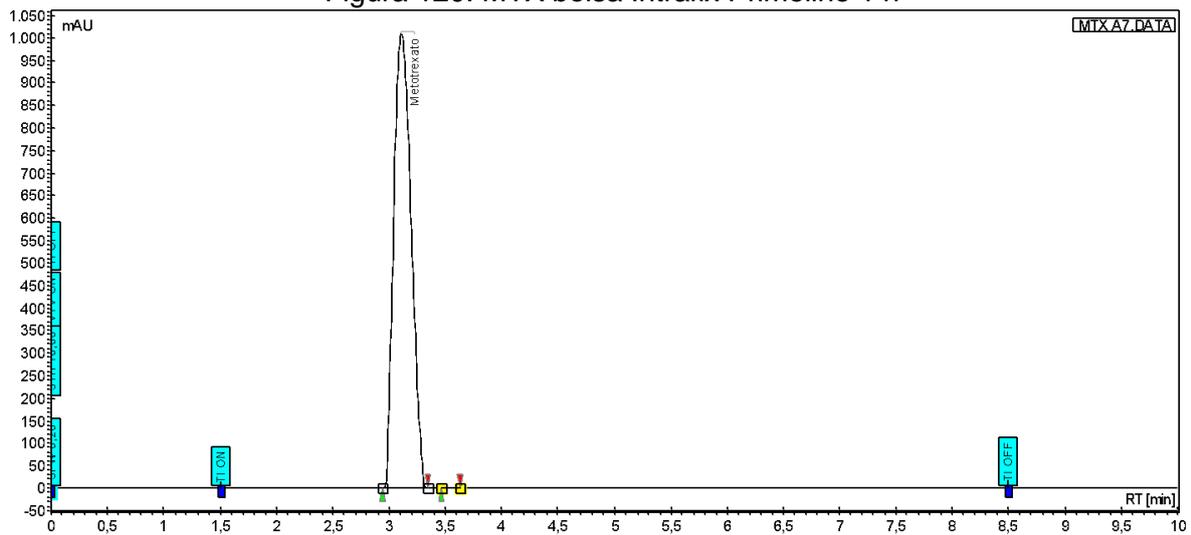


Figura 121. MTX bolsa Flebotek 1.5 h

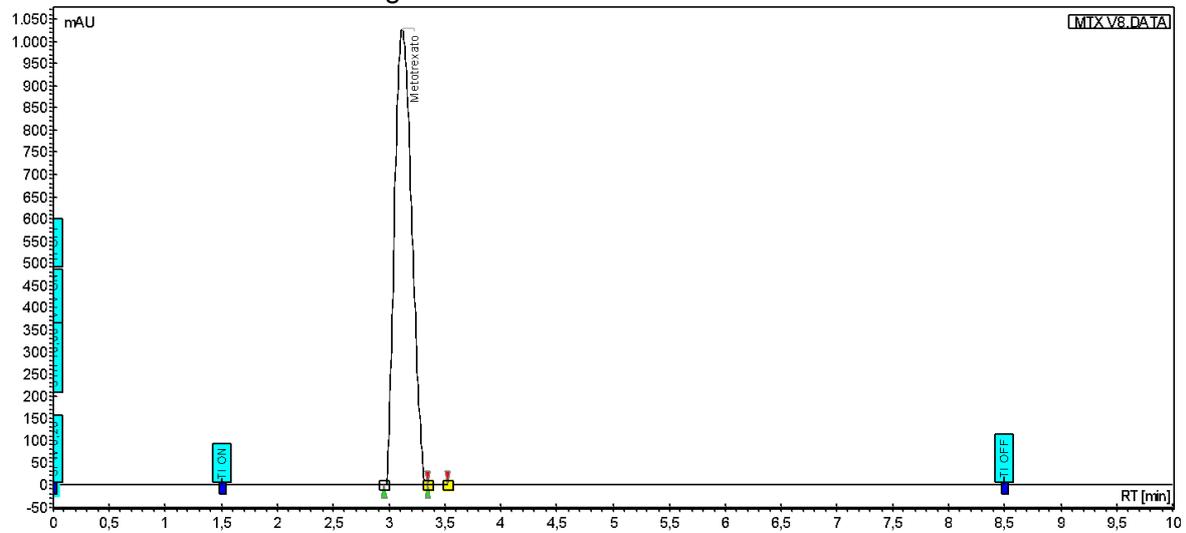


Figura 122. MTX bolsa Intrafix Primeline 1.5 h

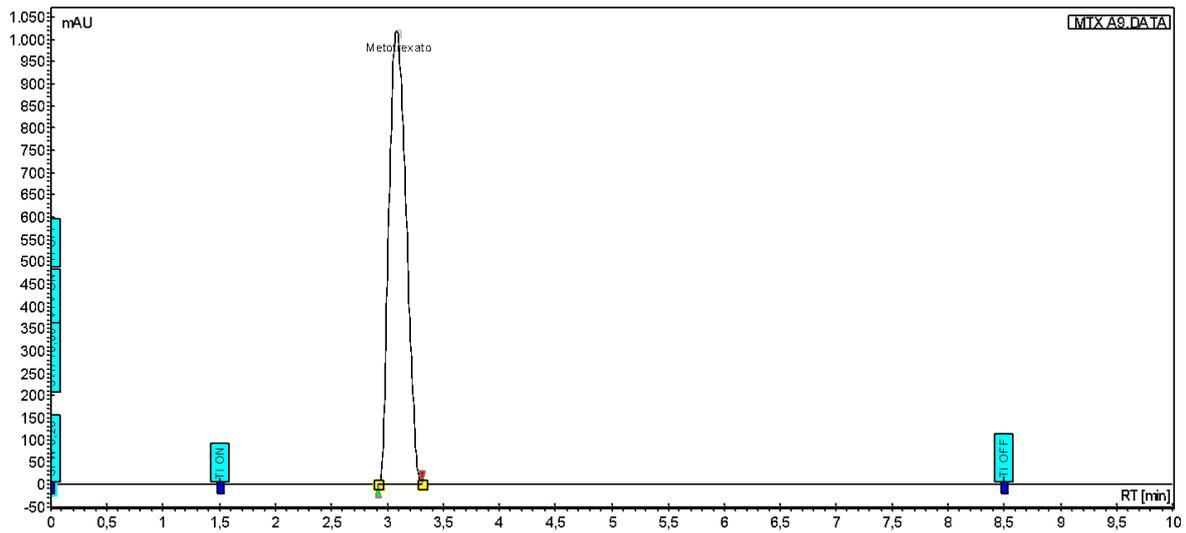


Figura 123. MTX bolsa Flebotek 2 h

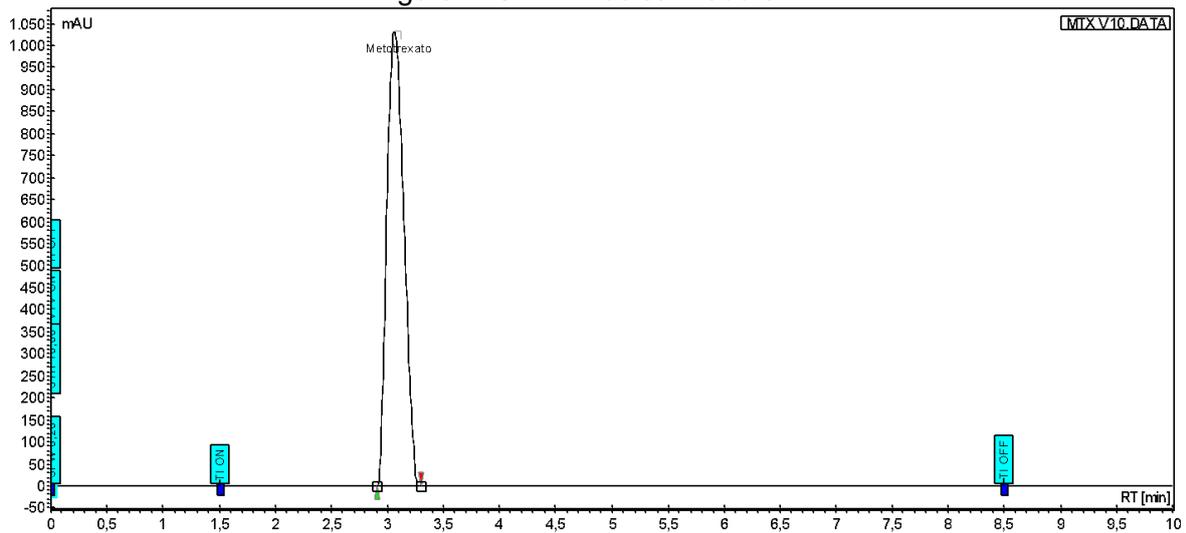


Figura 124. MTX bolsa Intrafix Primeline 2 h

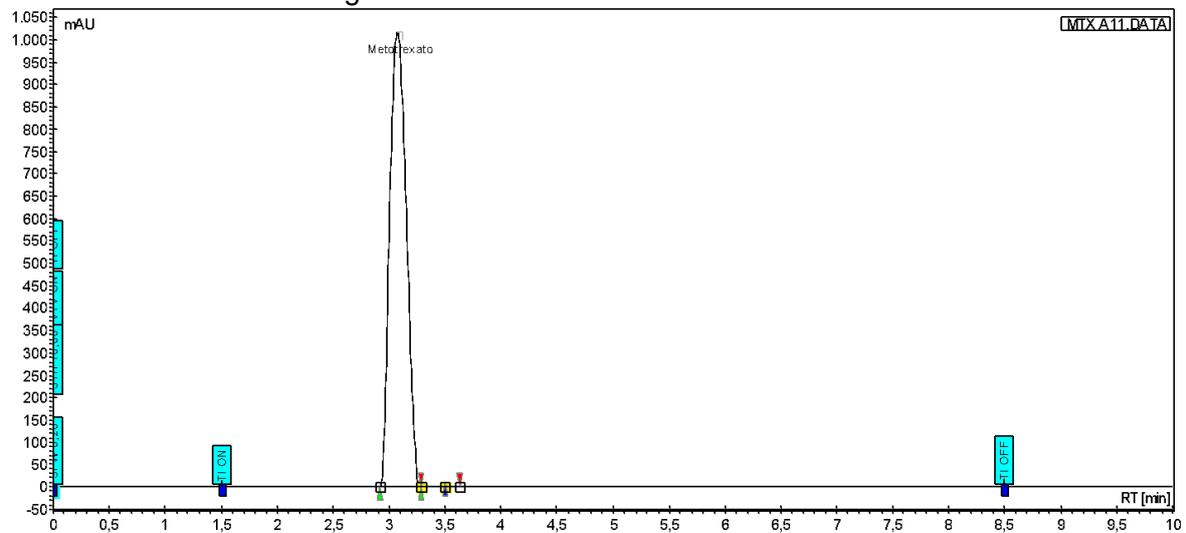


Figura 125. MTX bolsa Flebotek 2.5 h

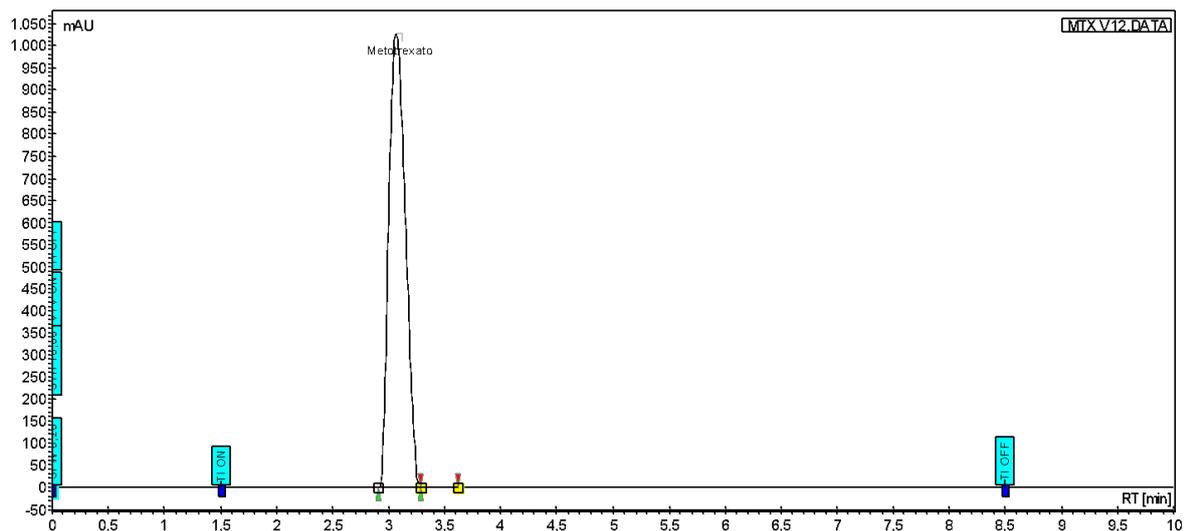


Figura 126. MTX bolsa Intrafix Primeline 2.5 h

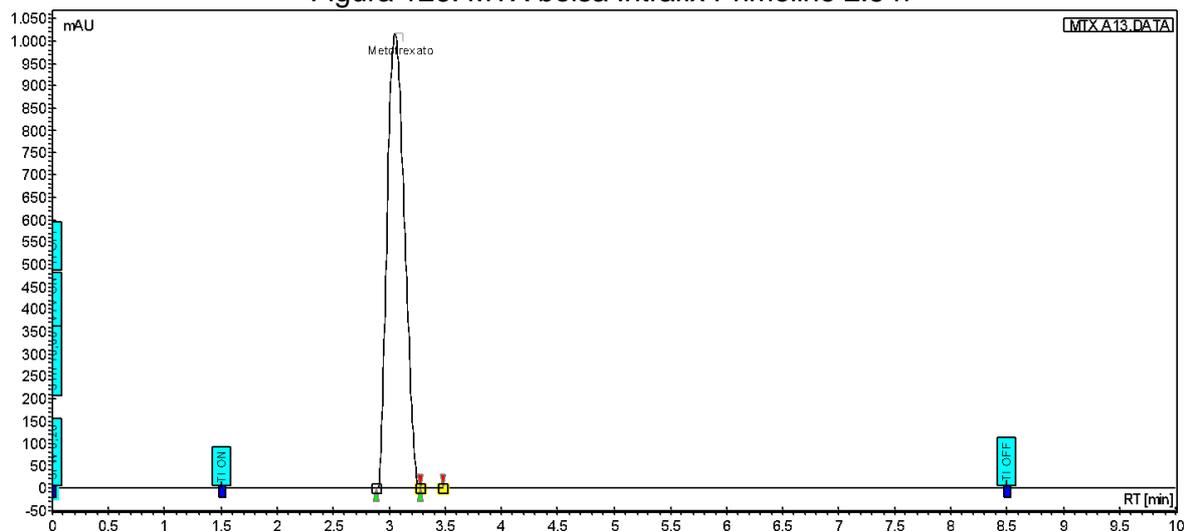


Figura 127. MTX bolsa Flebotek 3 h

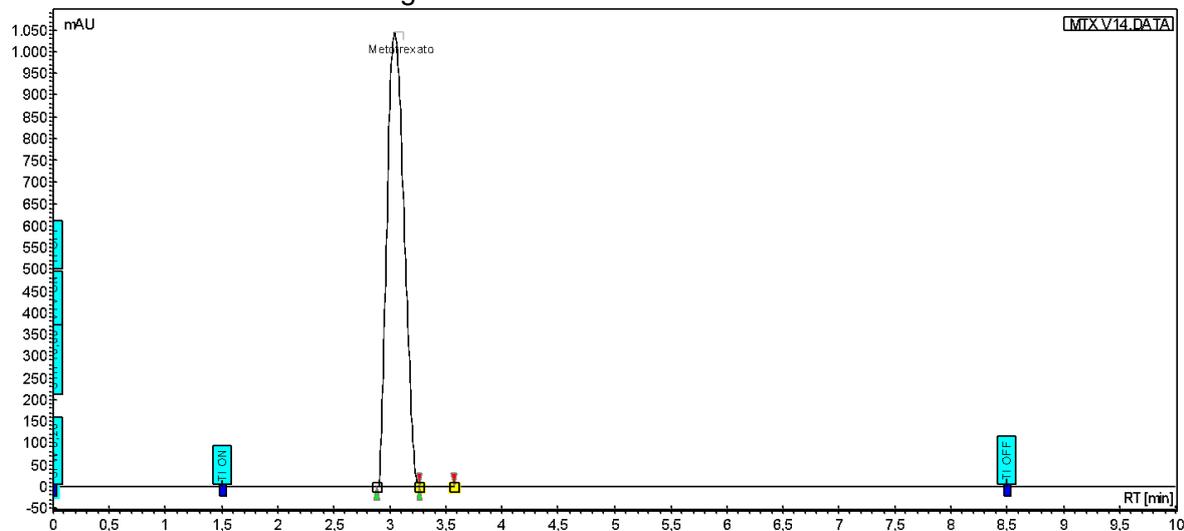


Figura 128. MTX bolsa Intrafix Primeline 3h

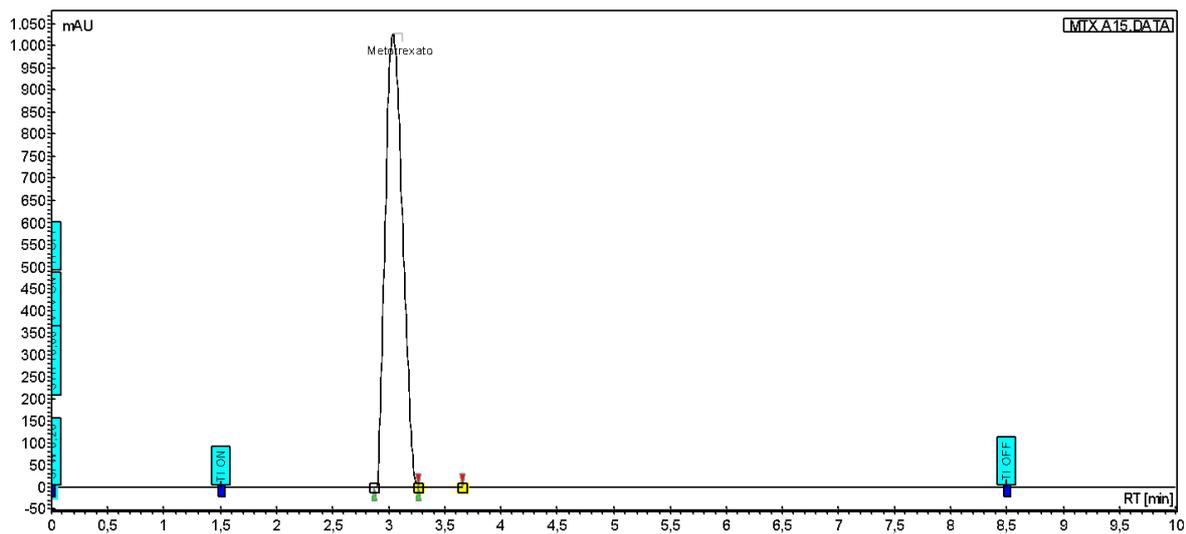


Figura 129. MTX bolsa Flebotek 3.25 h

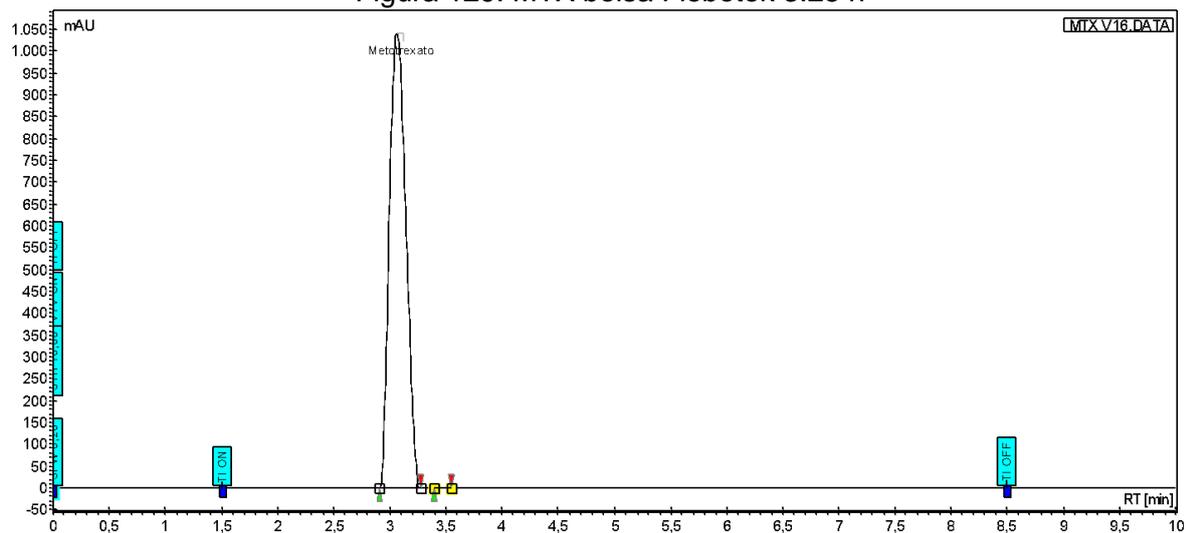


Figura 130. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.25 h

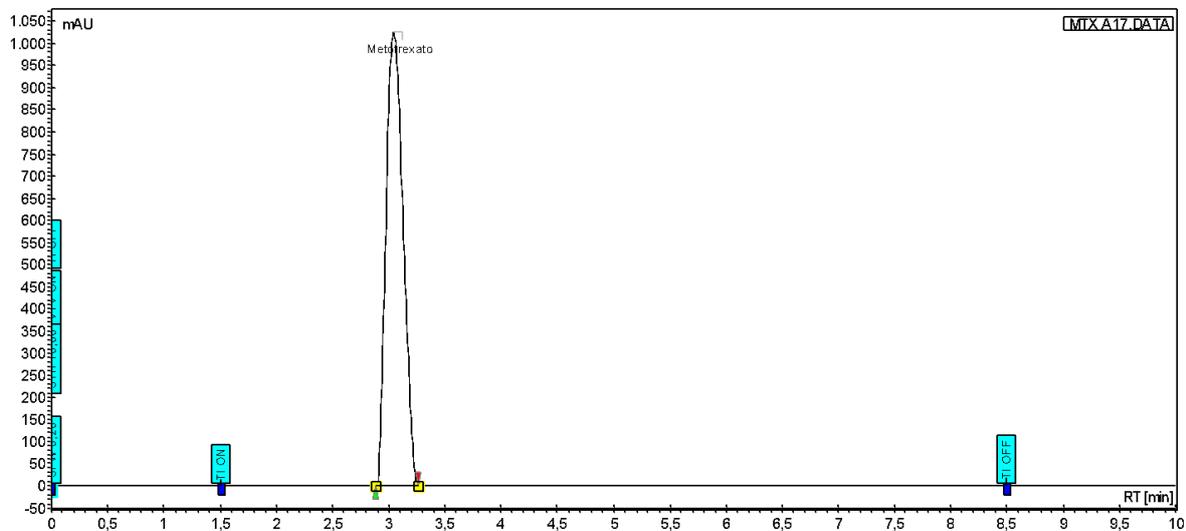


Figura 131. MTX bolsa Flebotek 3.5 h

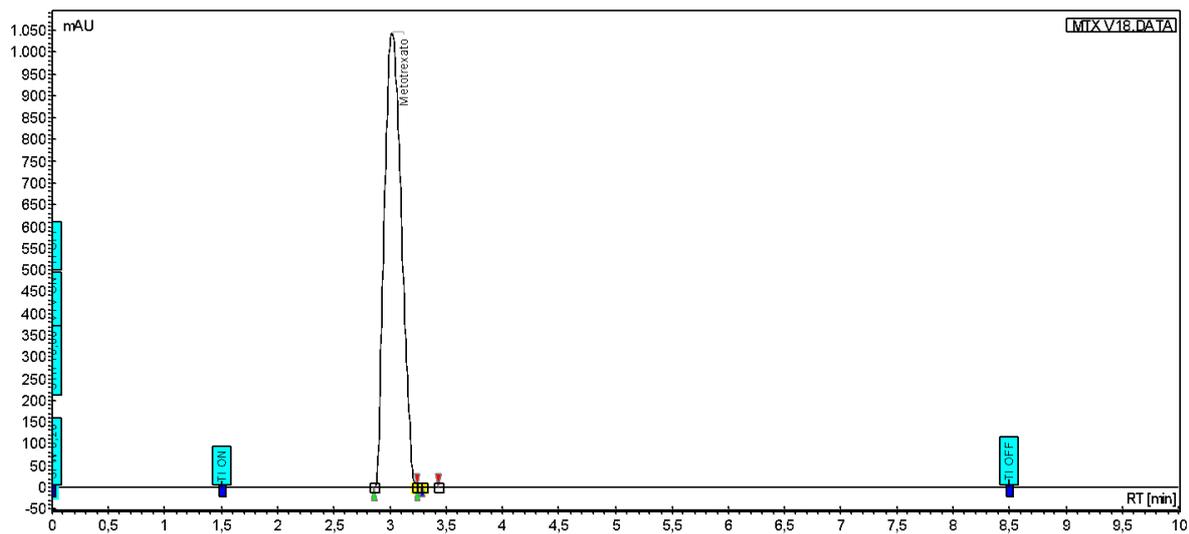


Figura 132. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.5h

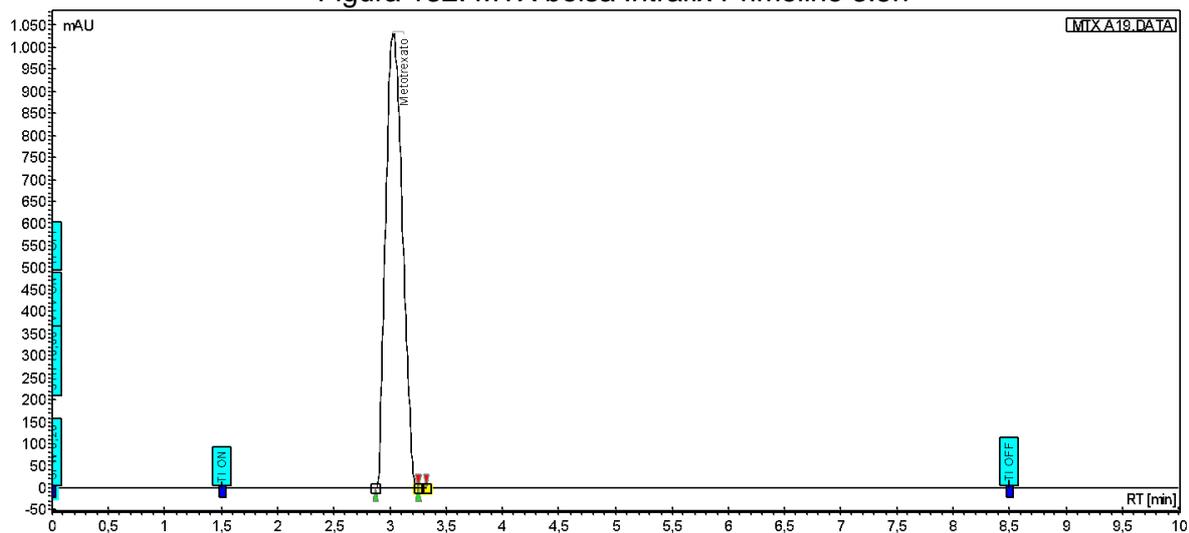


Figura 133. MTX bolsa Flebotek 3.75 h

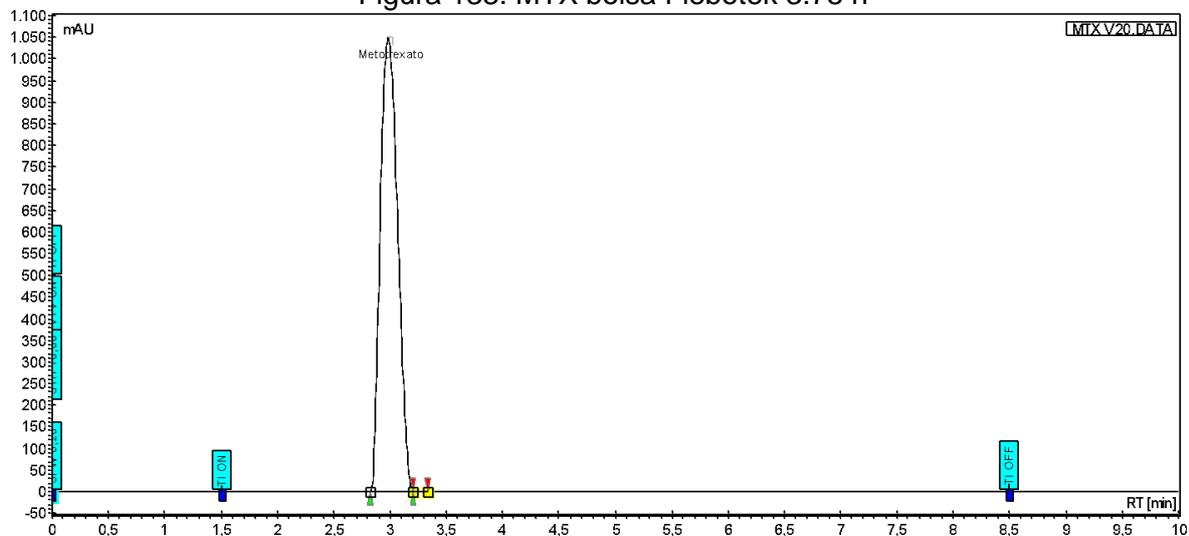


Figura 134. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.75 h

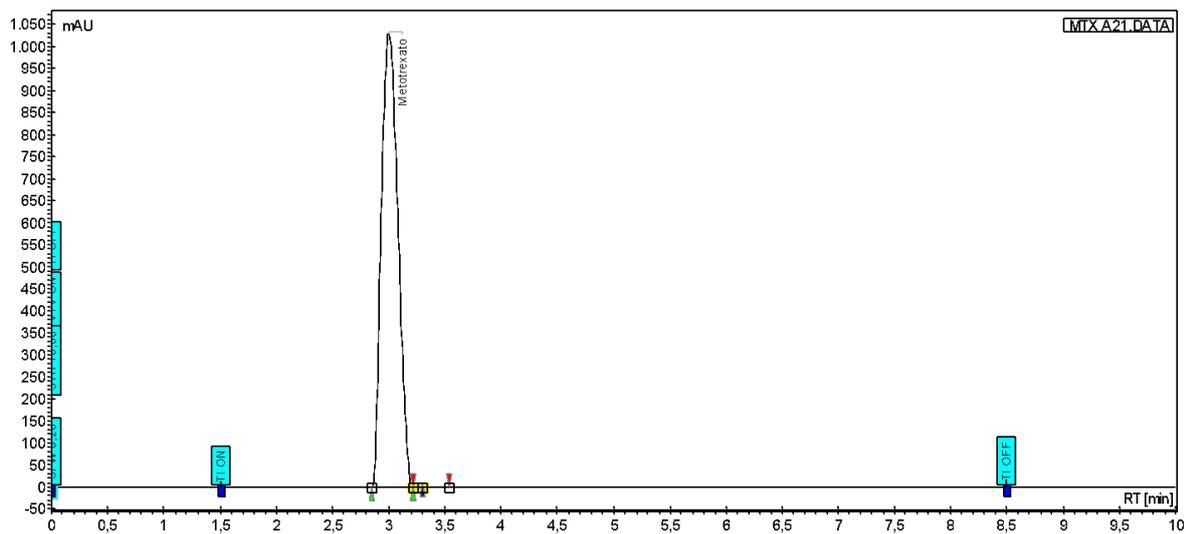


Figura 135. MTX bolsa Flebotek 4h

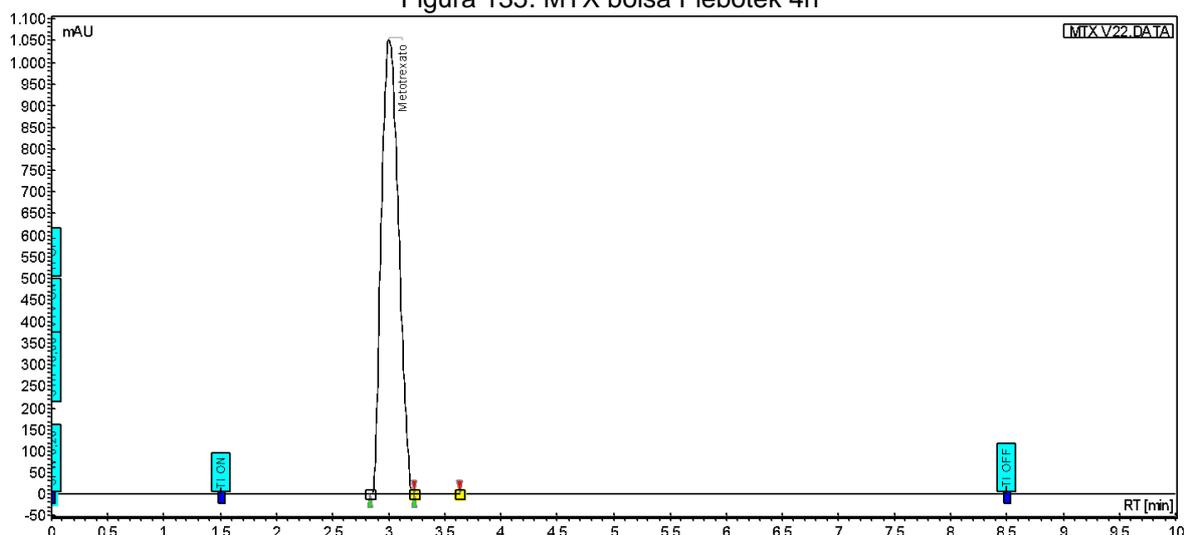


Figura 136. MTX bolsa Intrafix Primeline 4h

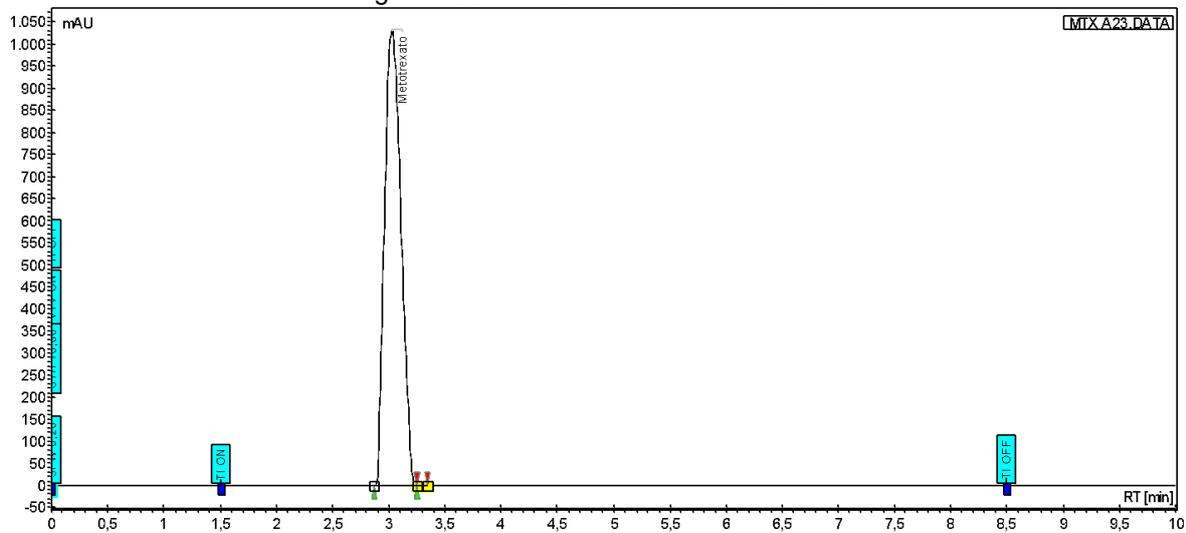


Figura 137. MTX bolsa Flebotek 4.25 h

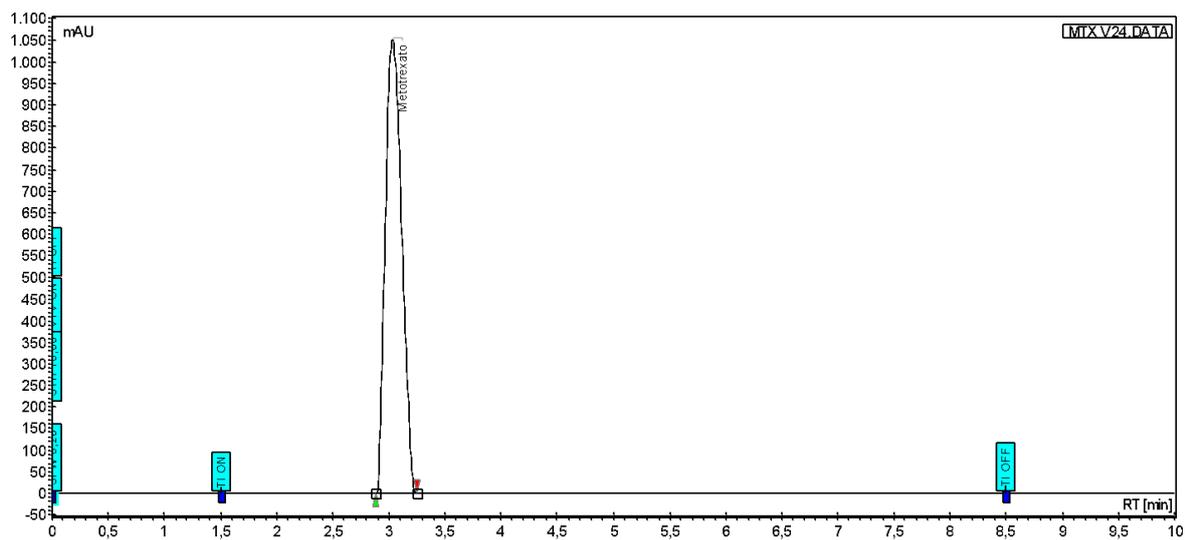


Figura 138. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.25 h

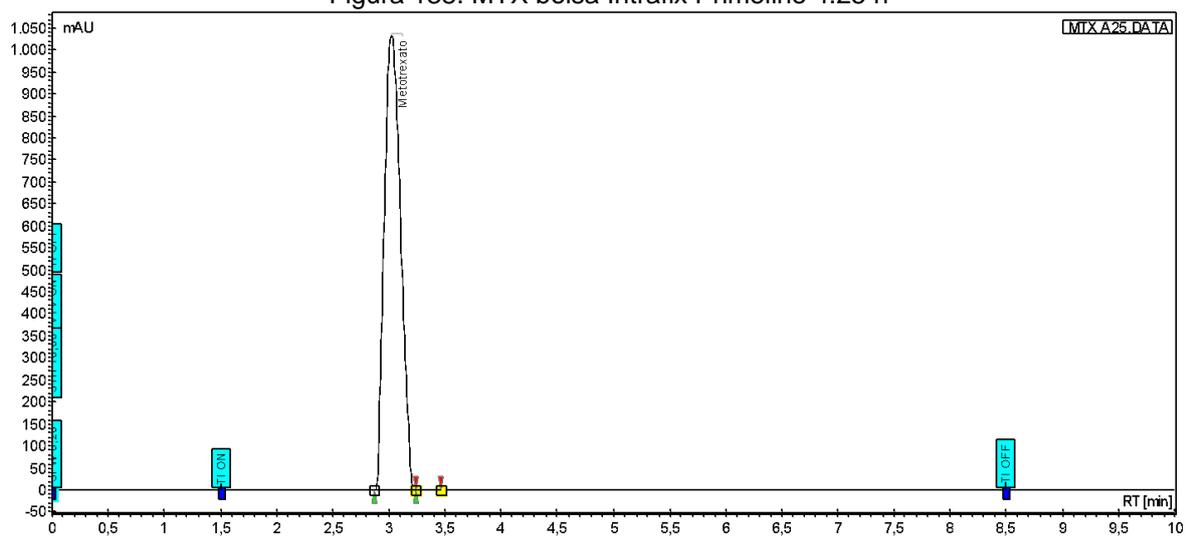


Figura 139. MTX bolsa Flebotek 4.5 h

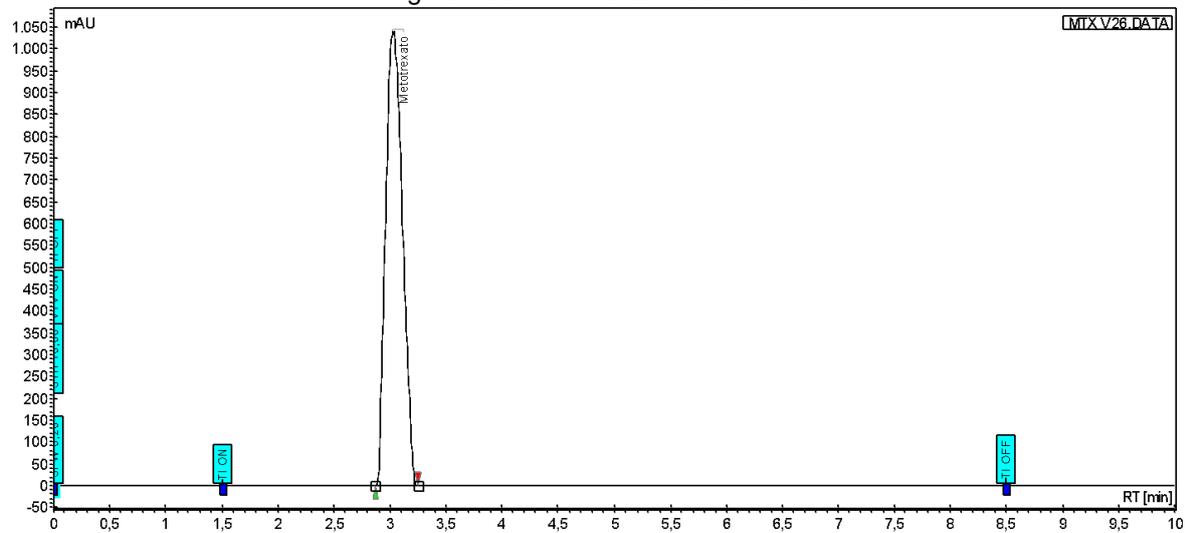


Figura 140. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.5 h

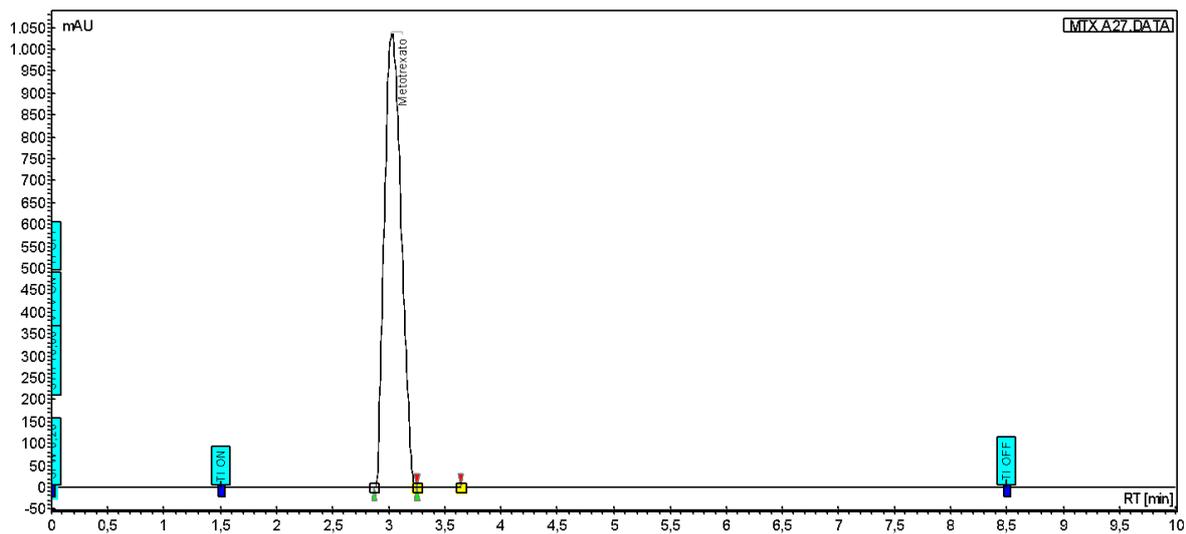


Figura 141. MTX bolsa Flebotek 4.75 h

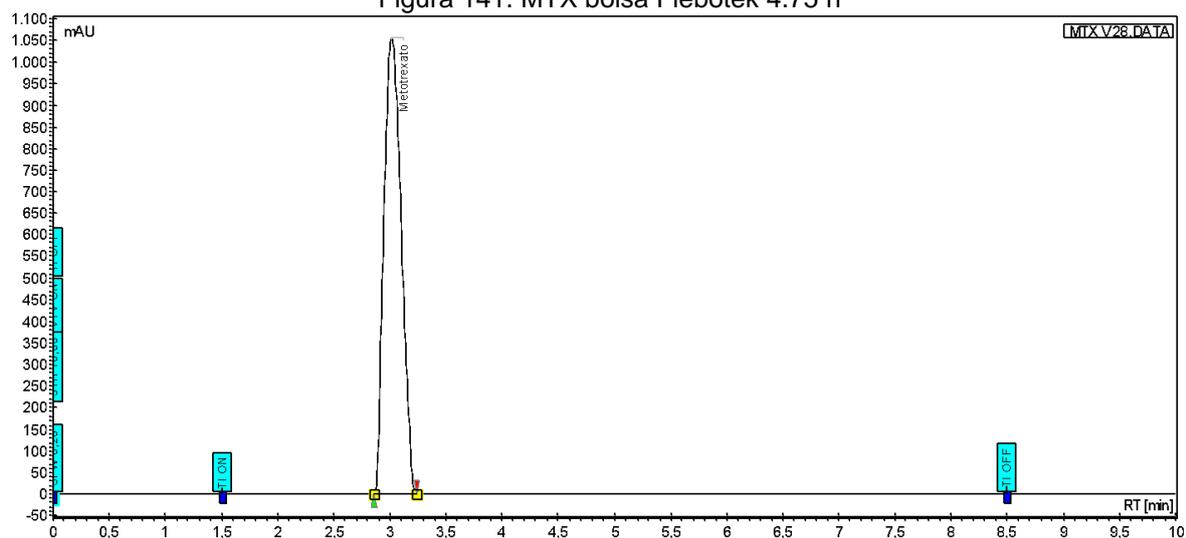


Figura 142. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.75 h

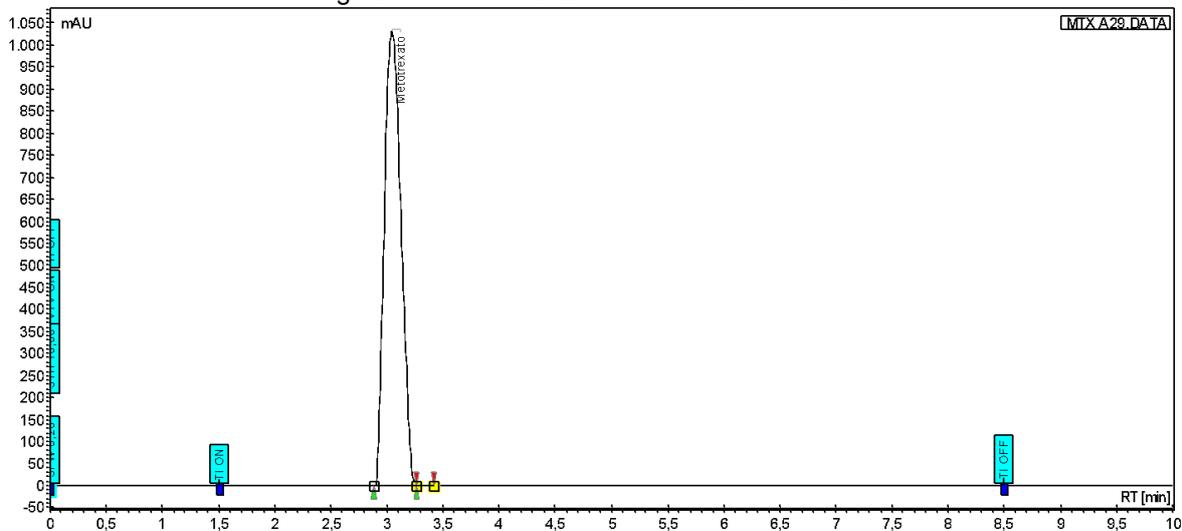


Figura 143. MTX bolsa Flebotek 5 h

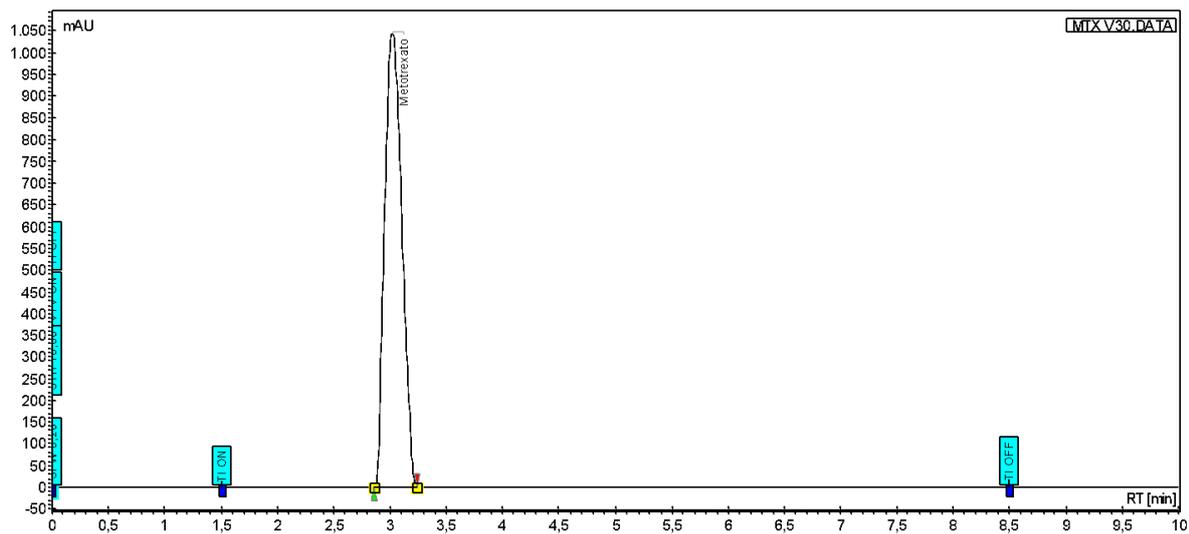


Figura 144. MTX bolsa Intrafix Primeline 5 h

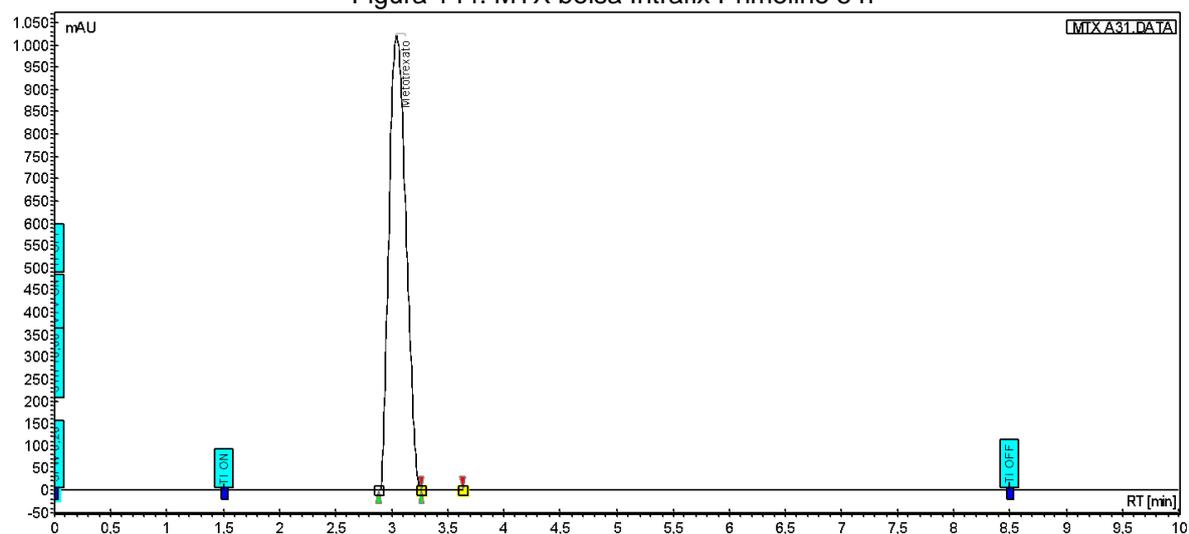


Figura 145. MTX bolsa Flebotek 5.25 h

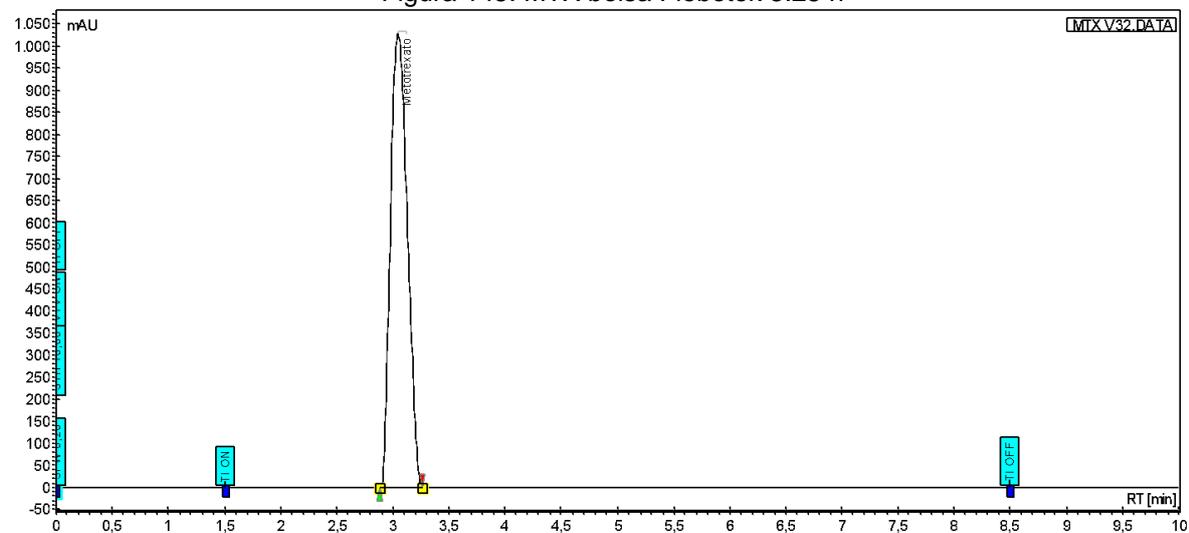


Figura 146. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.25 h

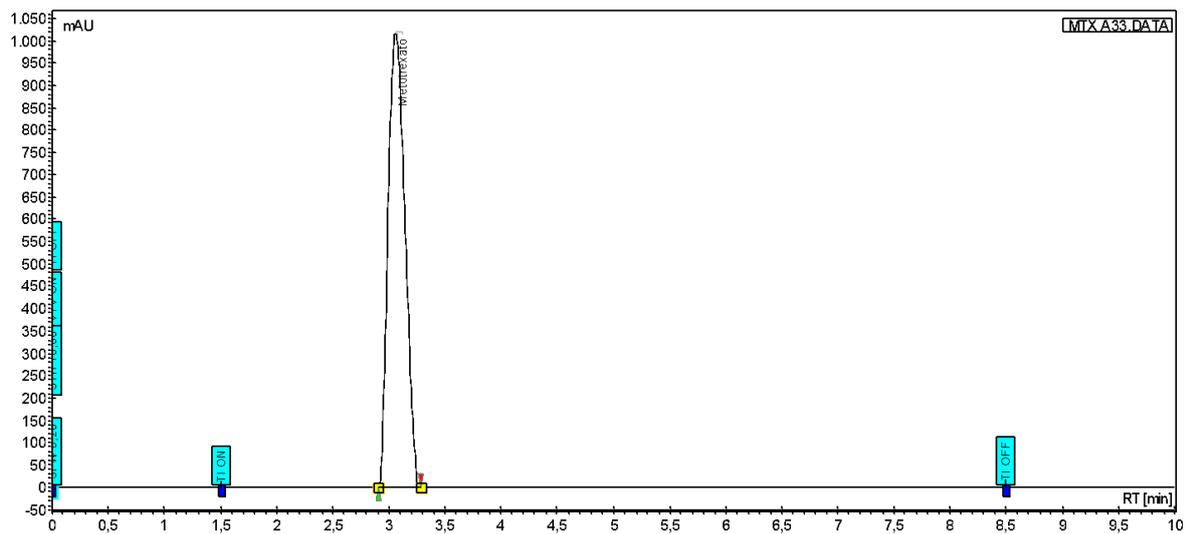


Figura 147. MTX bolsa Flebotek 5.5 h

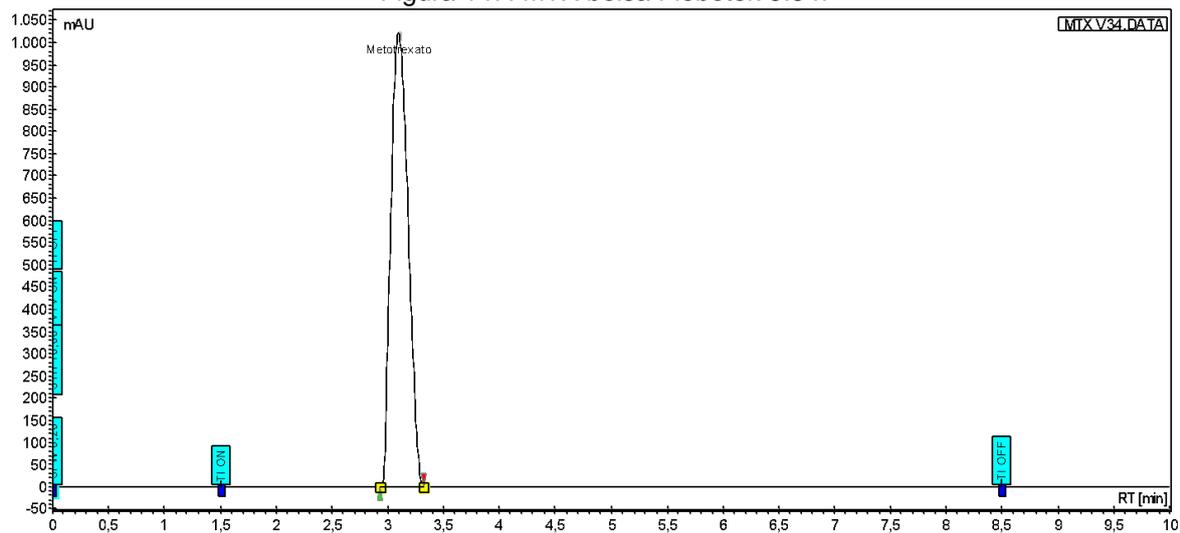


Figura 148. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.5 h

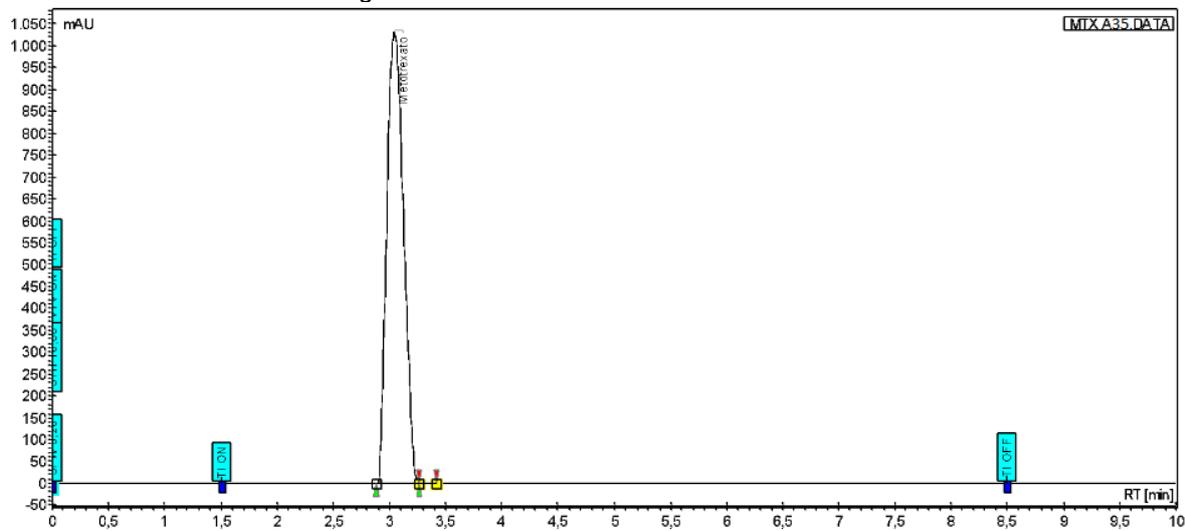


Figura 149. MTX bolsa Flebotek 5.75 h

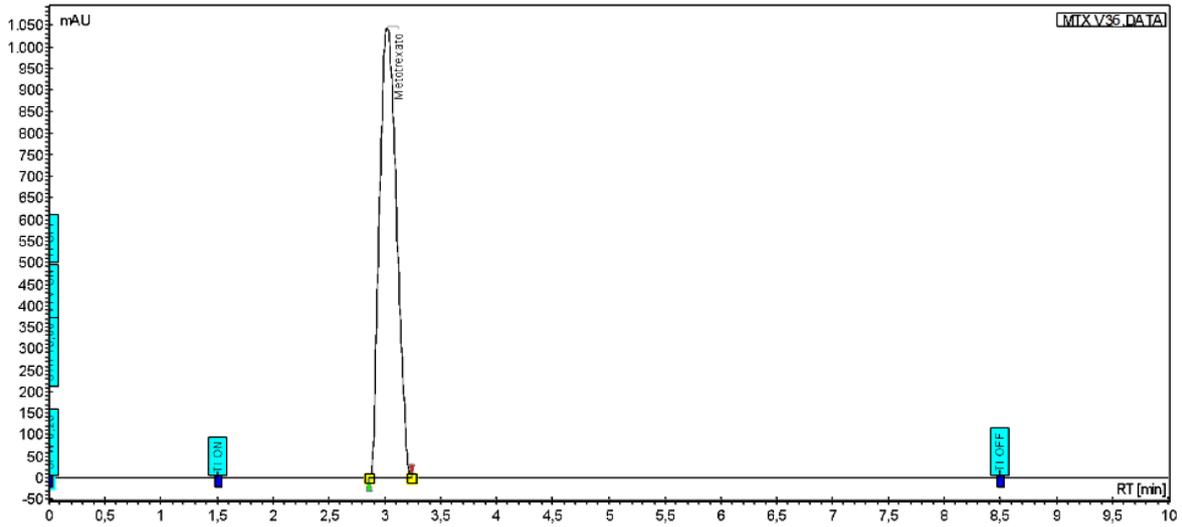


Figura 150. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.75 h

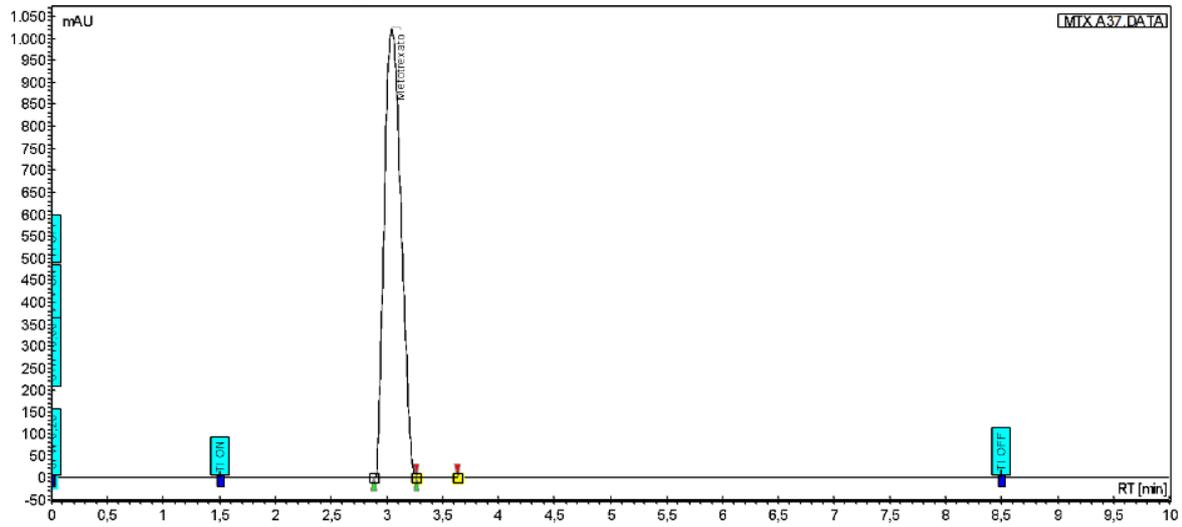


Figura 151. MTX bolsa Flebotek 6 h

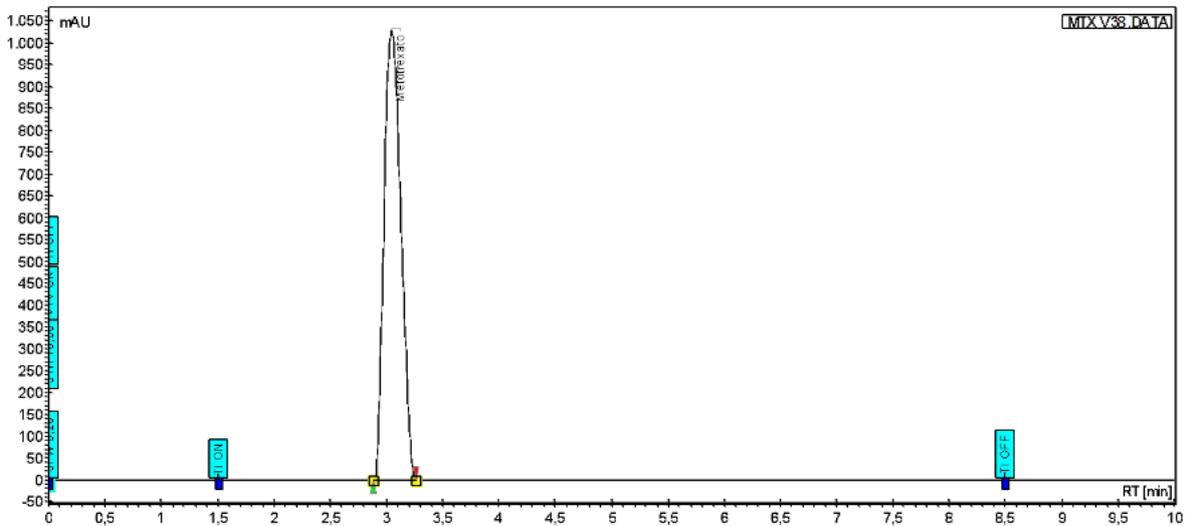


Figura 152. MTX bolsa Intrafix Primeline 6 h

Cuadro 7. Cantidad de luz en los tiempos de muestreo 29-08-23

Tiempo de muestreo	Hora	Cantidad de luz-Bolsa Flebotek (LUX)	Cantidad de lux-Bolsa Intrafix Primeline (LUX)
0 h	09:00	181.9	193.2
0.5 h	09:30	360.5	374.3
1 h	10:00	533.5	571.8
1.5 h	10:30	704.2	755.4
2 h	11:00	888.7	946.8
2.5 h	11:30	1063.3	1131.0
3 h	12:00	1233.2	1312.0
3.25 h	12:15	1397.1	1497.9
3.5 h	12:30	1581.3	1689.1
3.75 h	12:45	1755.9	1868.3
4 h	13:00	1949.8	2055.4
4.25 h	13:15	2128.2	2230.0
4.5 h	13:30	2292.2	2399.9
4.75 h	13:45	2461.3	2572.9
5 h	14:00	2646.1	2748.1
5.25 h	14:15	2837.3	2930.1
5.5 h	14:30	3005.4	3100.6
5.75 h	14:45	3163.5	3261.8
6 h	15:00	3330.2	3422.6

Cuadro 8. Promedio del % de MTX en inyección tomada.

% de Metotrexato en la inyección tomada	
Flebotek	78.8782
Intrafix Primeline	78.8717

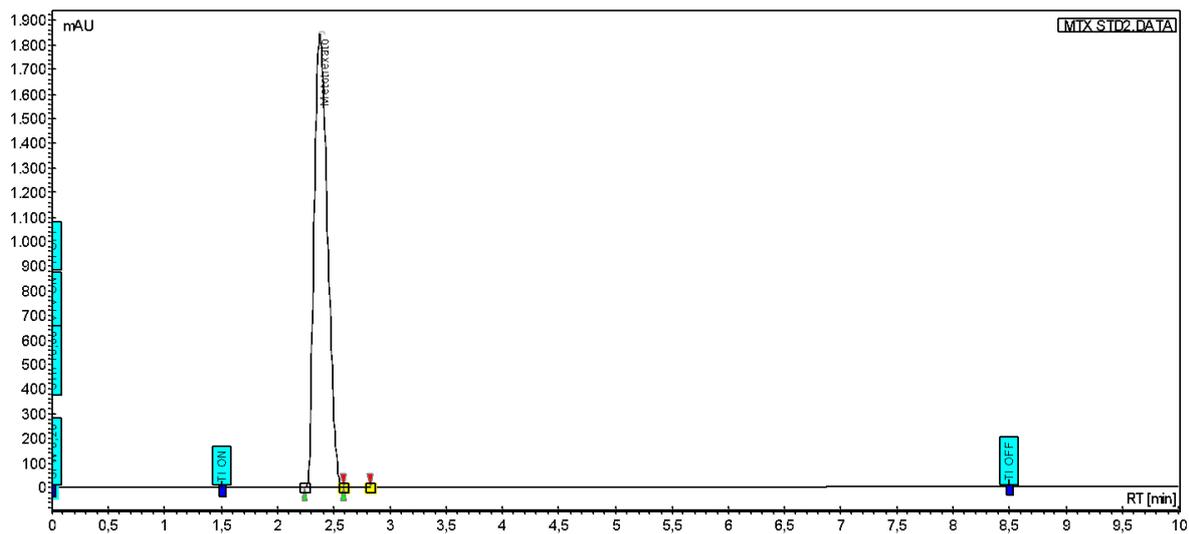


Figura 153. Estándar de Metotrexato

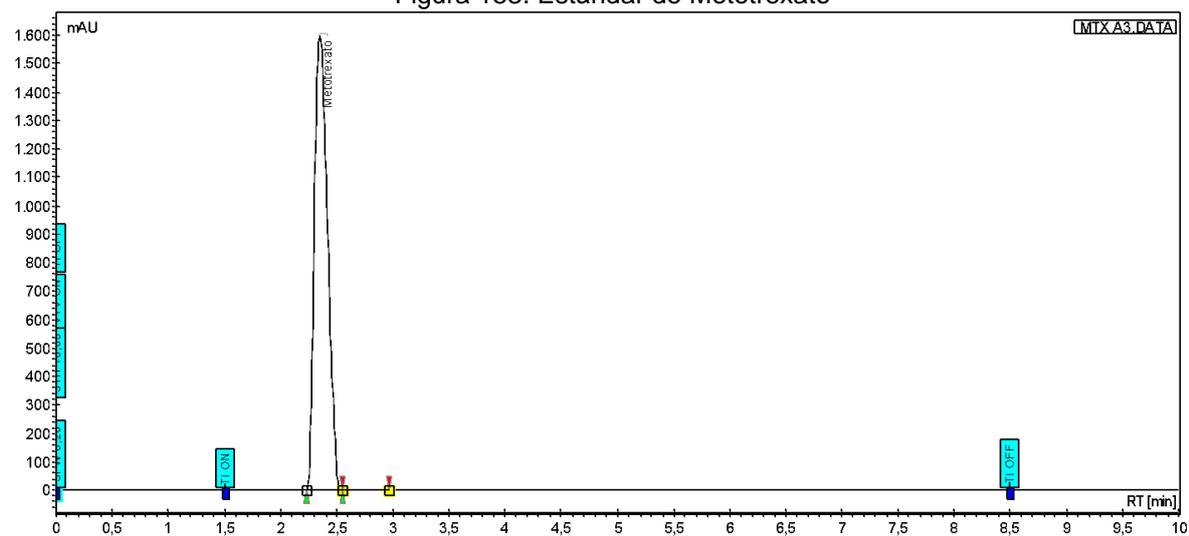


Figura 154. MTX bolsa Flebotek 0.5 h

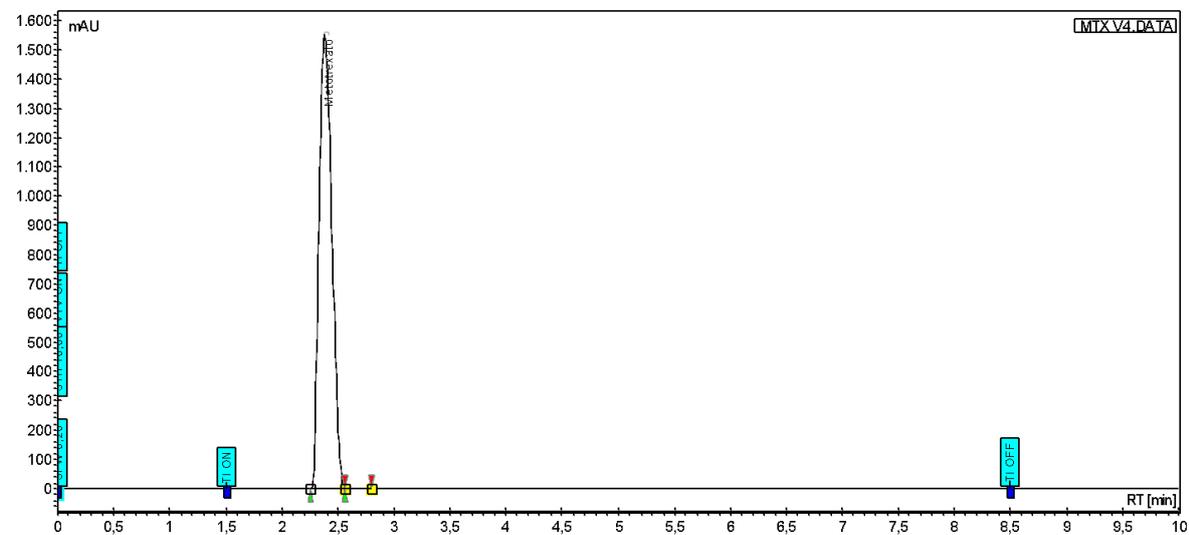


Figura 155. MTX bolsa Intrafix Primeline 0.5 h

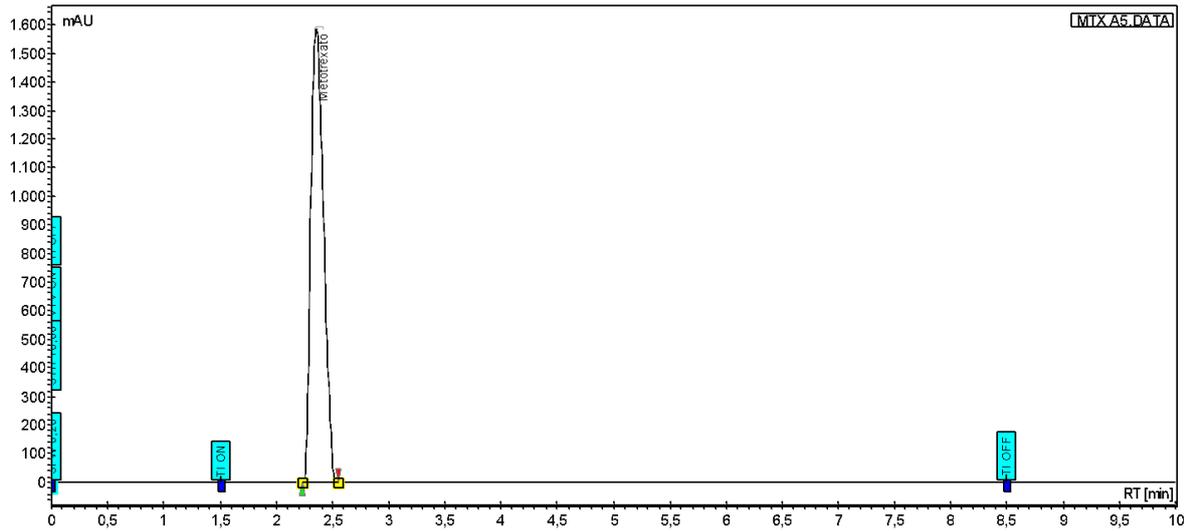


Figura 156. MTX bolsa Flebotek 1 h

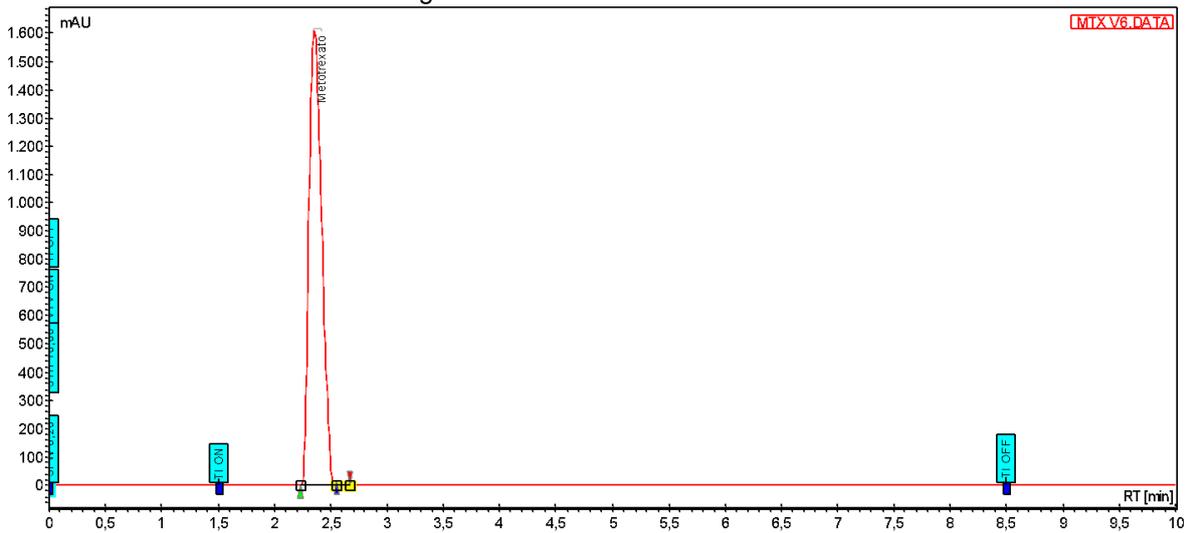


Figura 157. MTX bolsa Intrafix Primeline 1 h

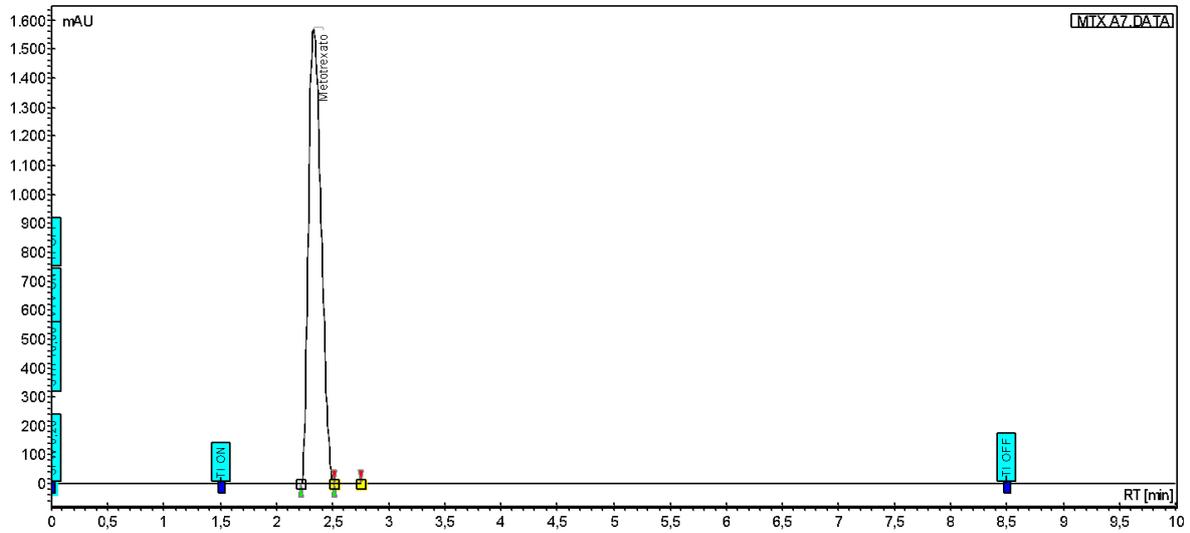


Figura 158. MTX bolsa Flebotek 1.5 h

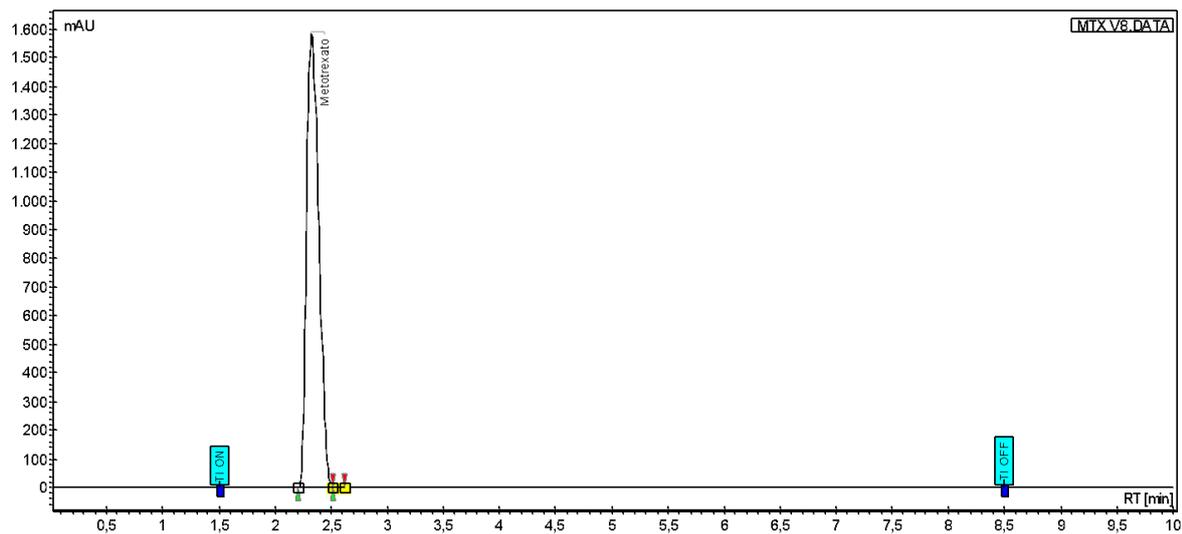


Figura 159. MTX bolsa Intrafix Primeline 1.5 h

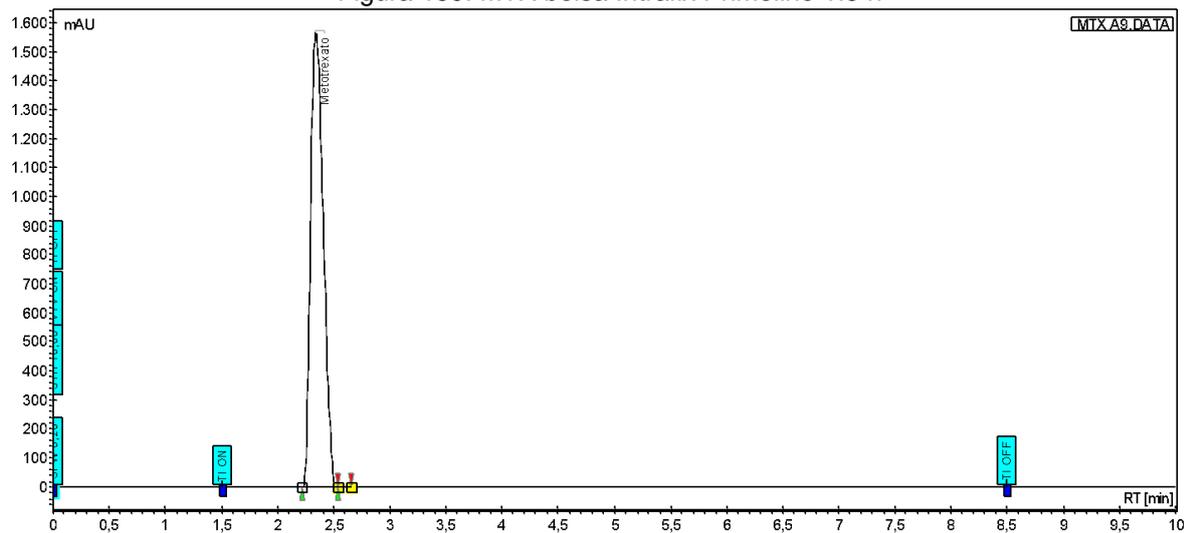


Figura 160. MTX bolsa Flebotek 2 h

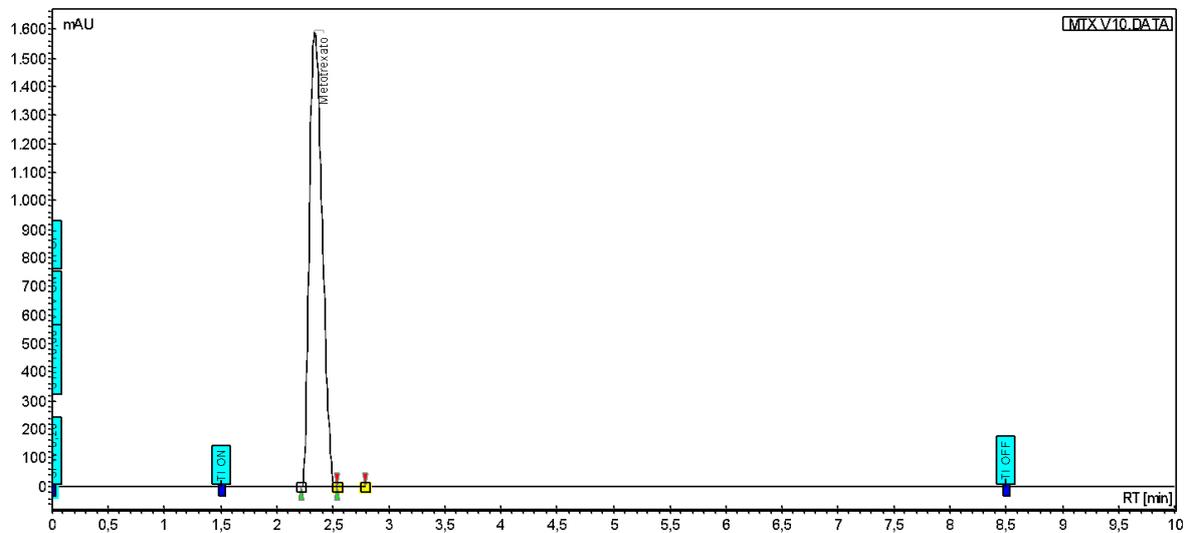


Figura 161. MTX bolsa Intrafix Primeline 2 h

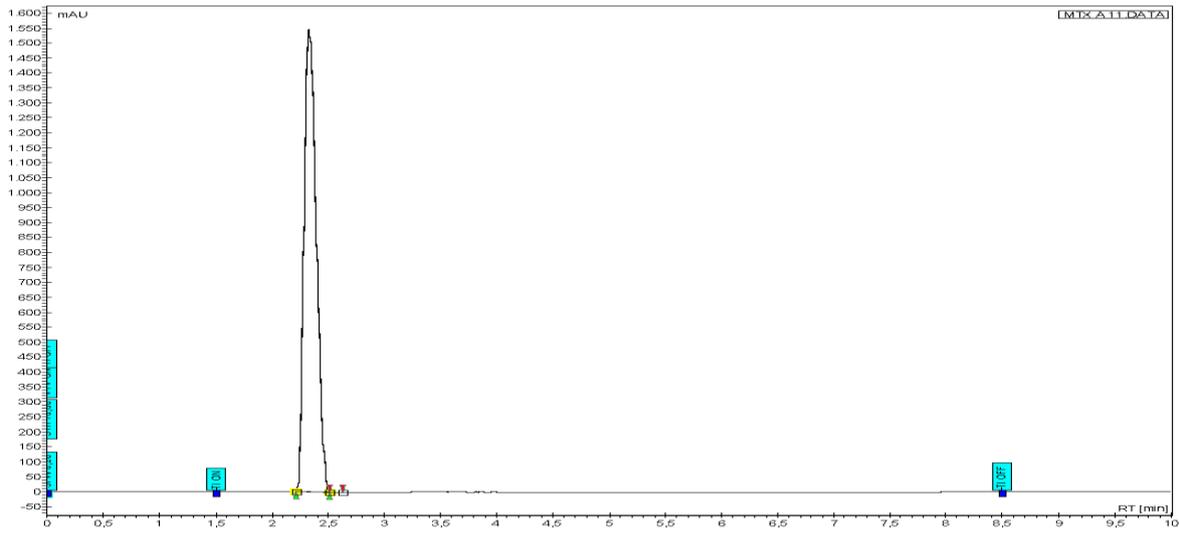


Figura 162. MTX bolsa Flebotek 2.5 h

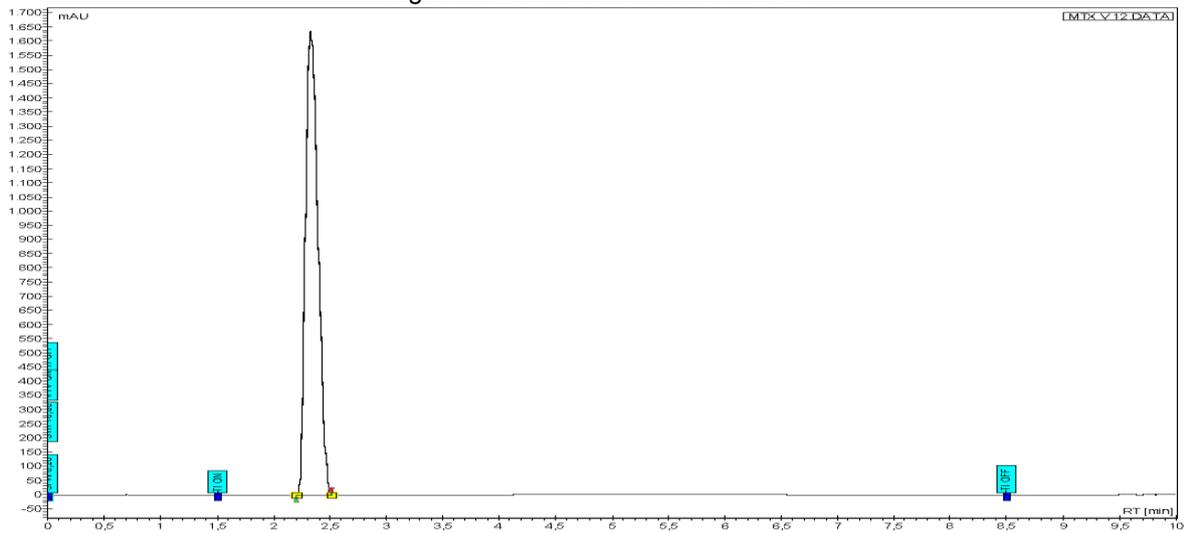


Figura 163. MTX bolsa Intrafix Primeline 2.5 h

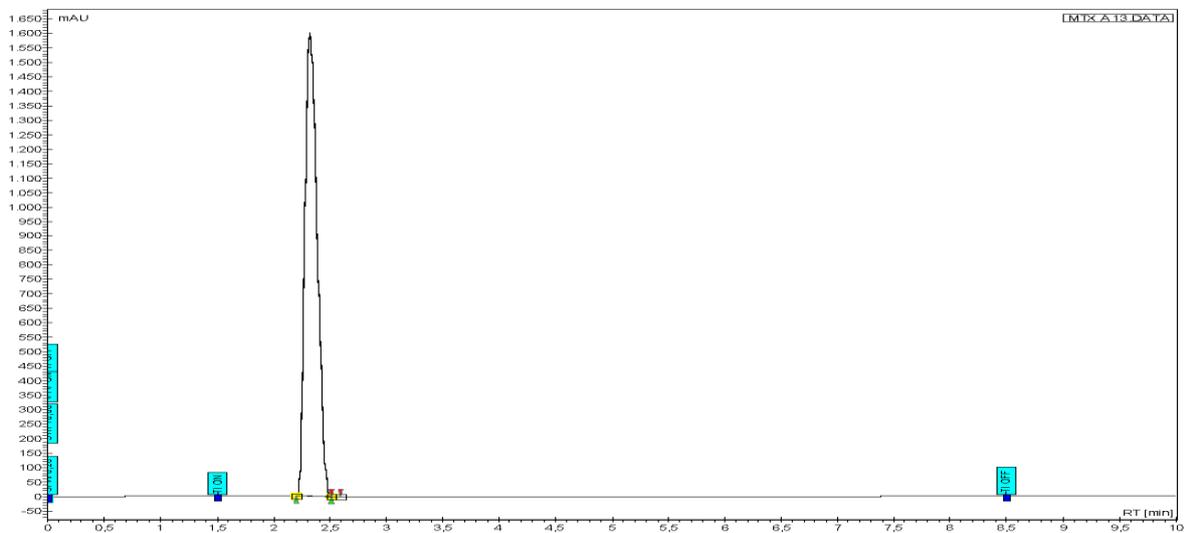


Figura 164. MTX bolsa Flebotek 3 h

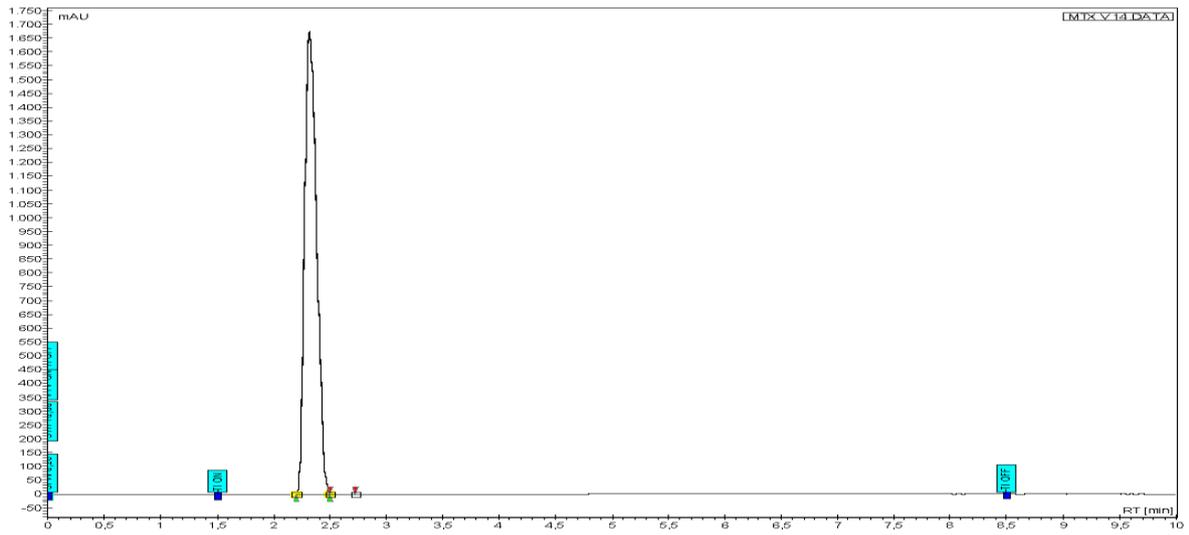


Figura 165. MTX bolsa Intrafix Primeline 3 h

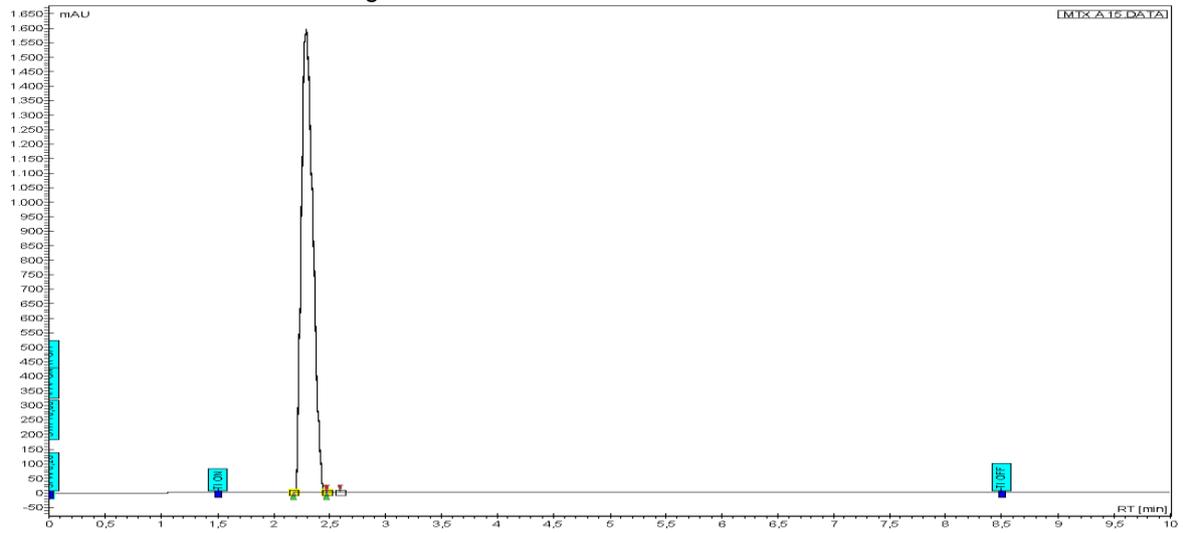


Figura 166. MTX bolsa Flebotek 3.25 h

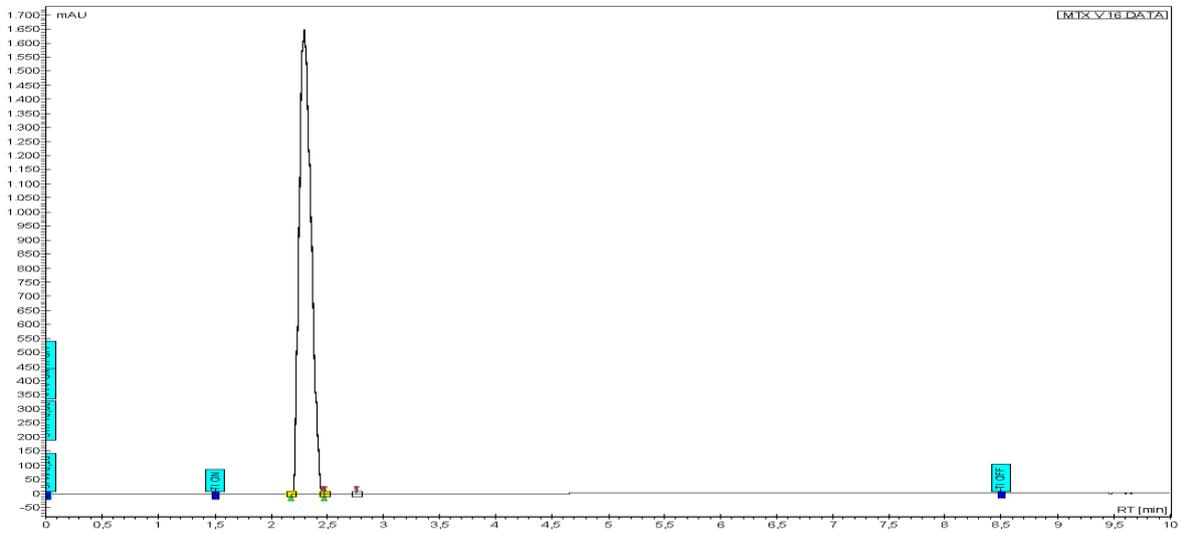


Figura 167. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.25 h

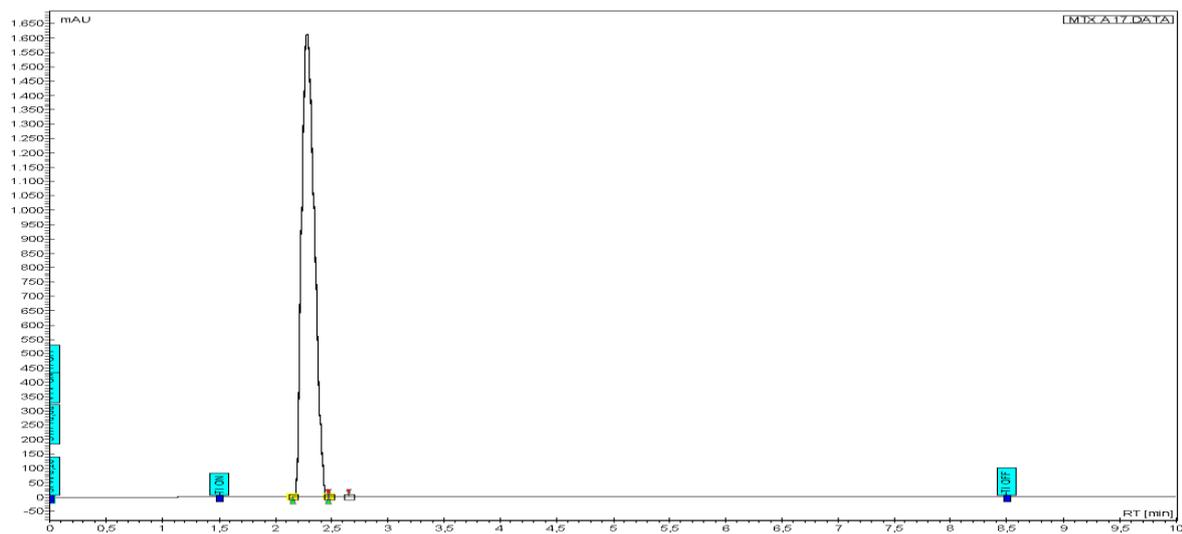


Figura 168. MTX bolsa Flebotek 3.5 h

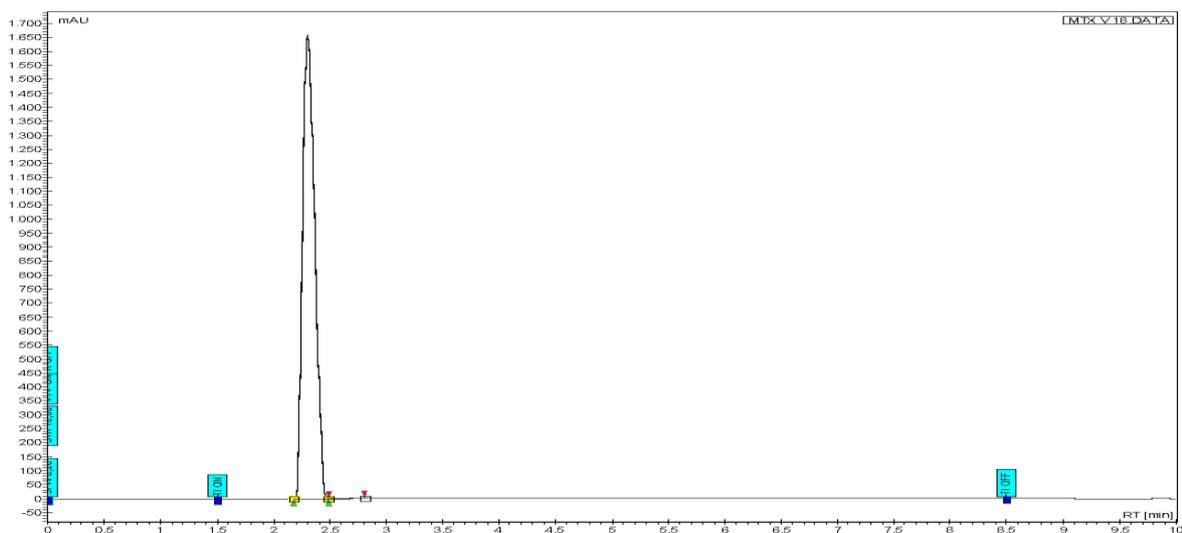


Figura 169. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.5 h

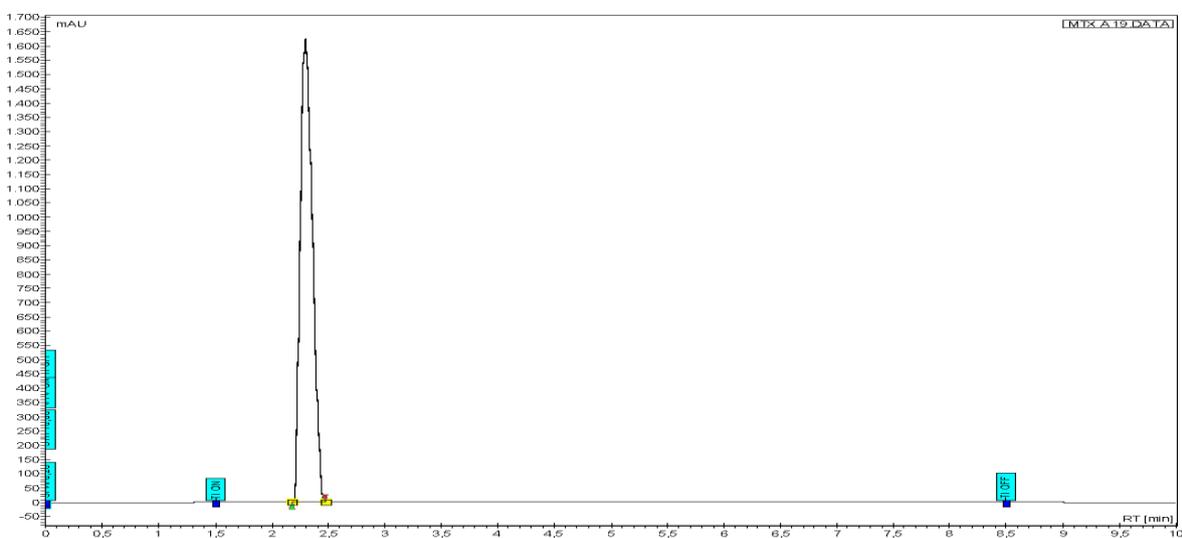


Figura 170. MTX bolsa Flebotek 3.75 h

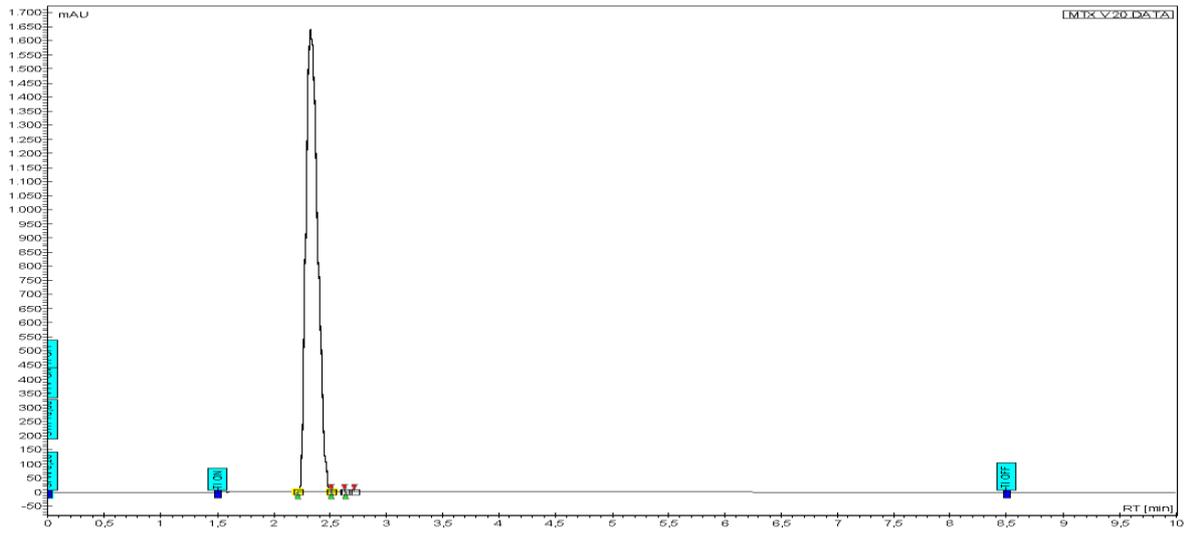


Figura 171. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.75 h

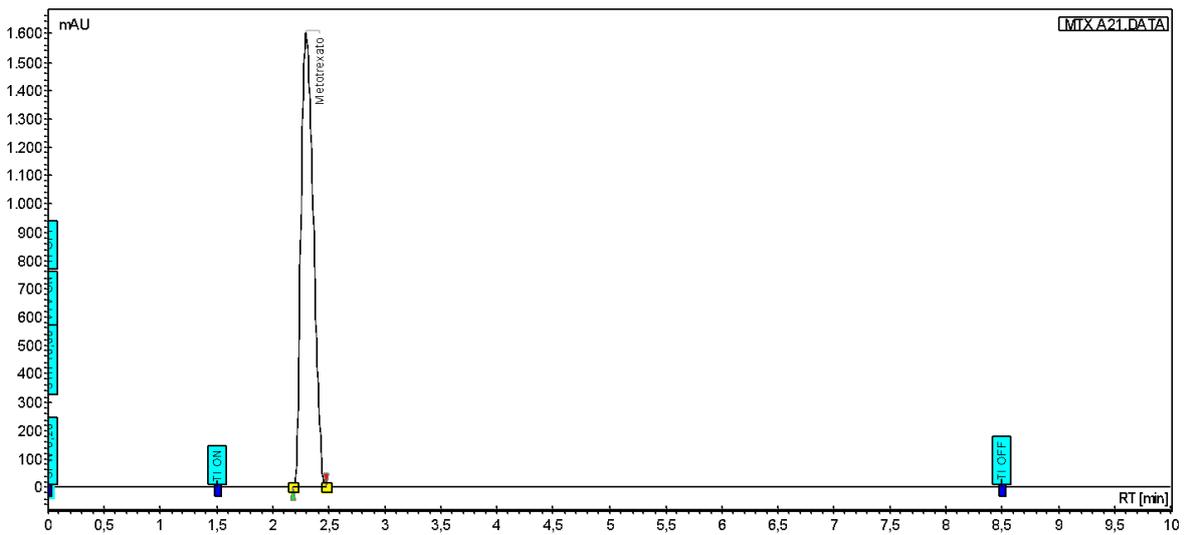


Figura 172. MTX bolsa Flebotek 4 h

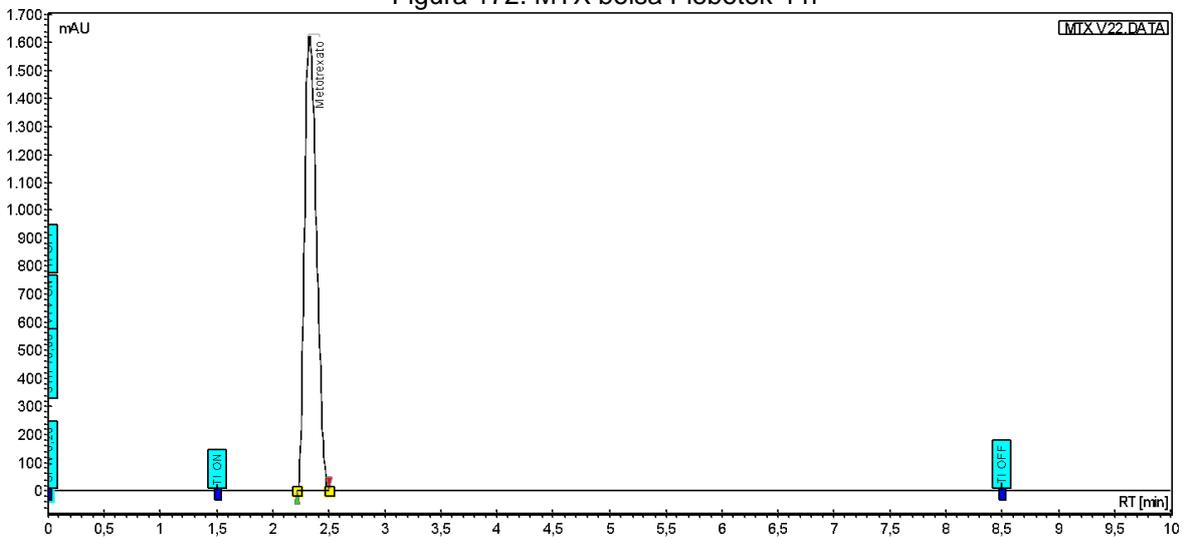


Figura 173. MTX bolsa Intrafix Primeline 4 h

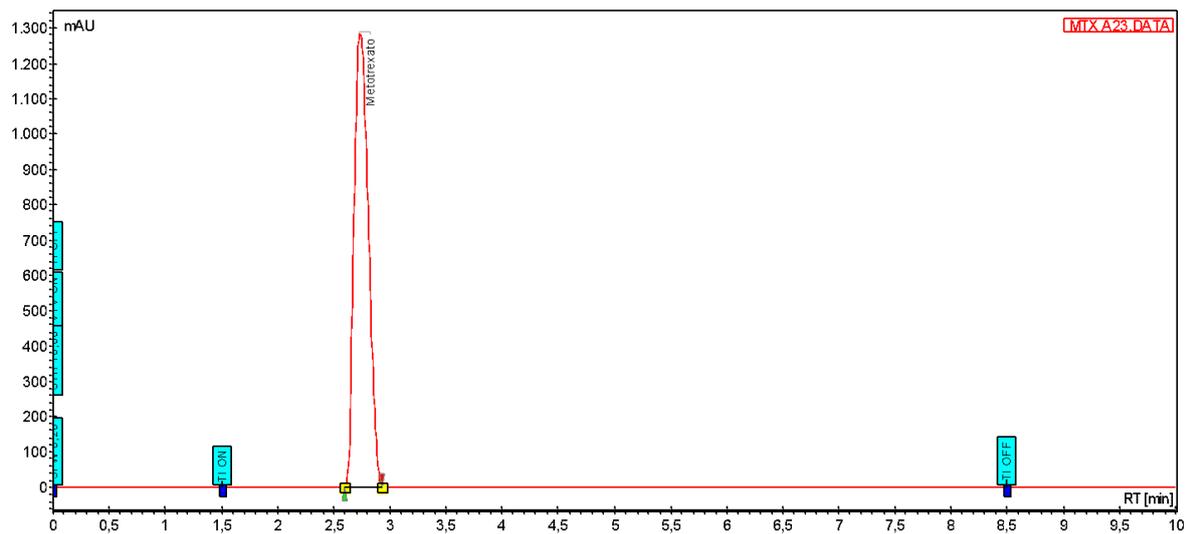


Figura 174. MTX bolsa Flebotek 4.25 h

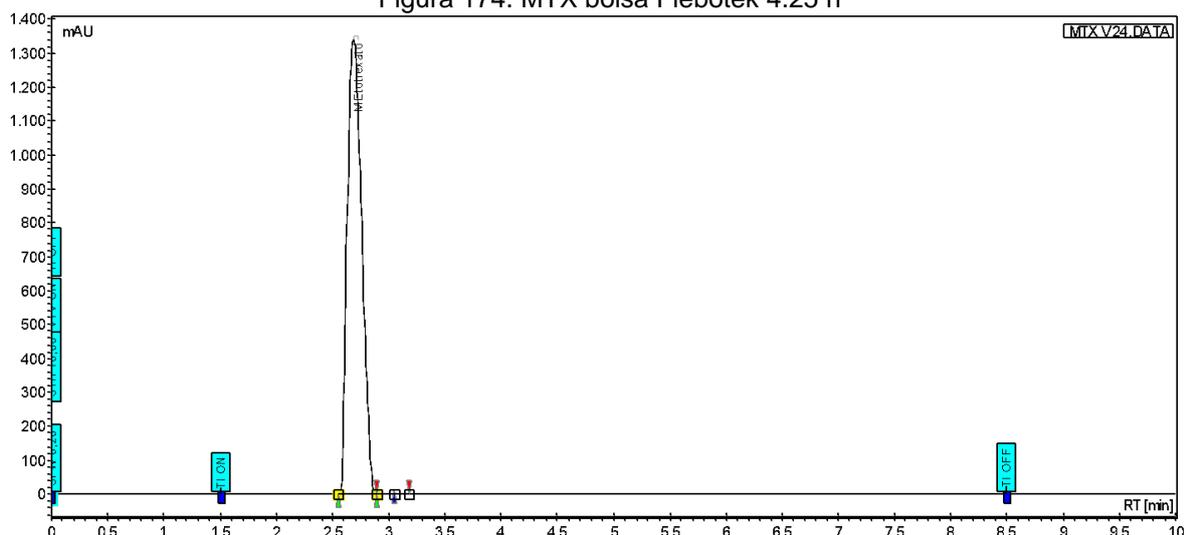


Figura 175. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.25 h

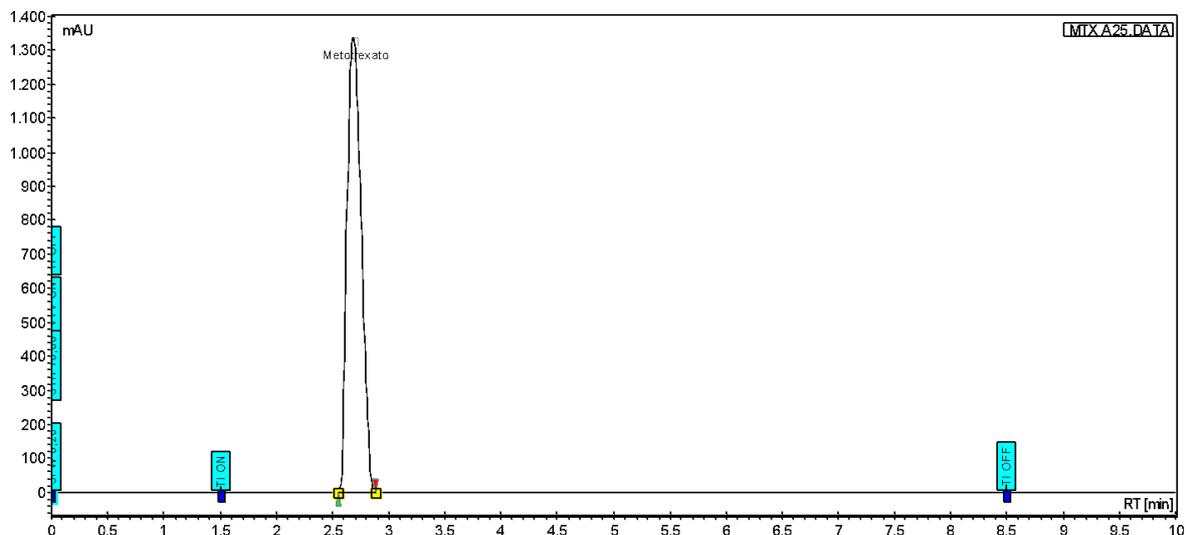


Figura 176. MTX bolsa Flebotek 4.5 h

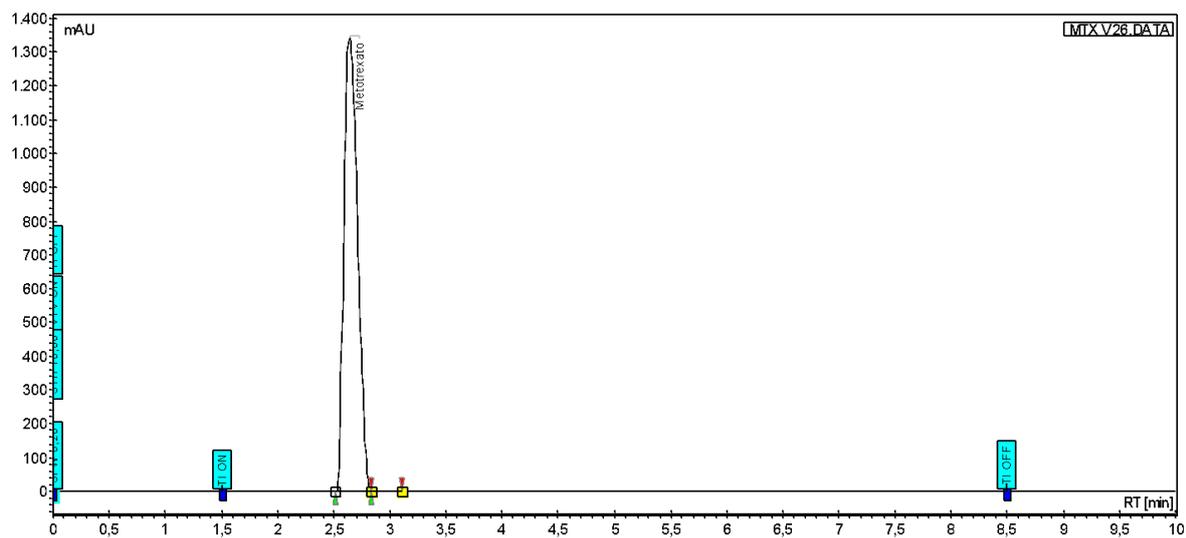


Figura 177. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.5 h

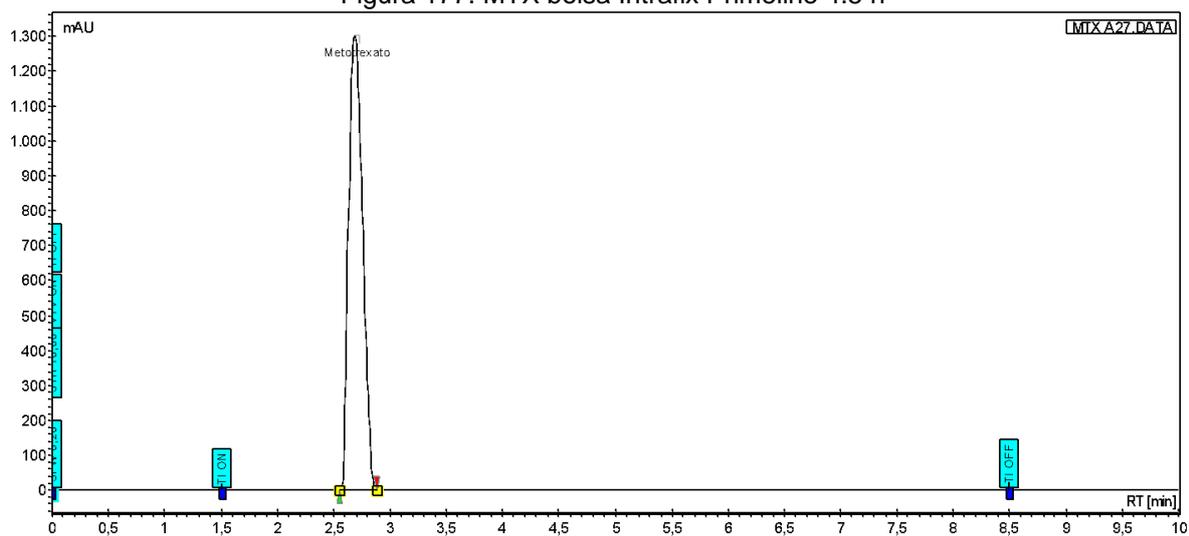


Figura 178. MTX bolsa Flebotek 4.75 h

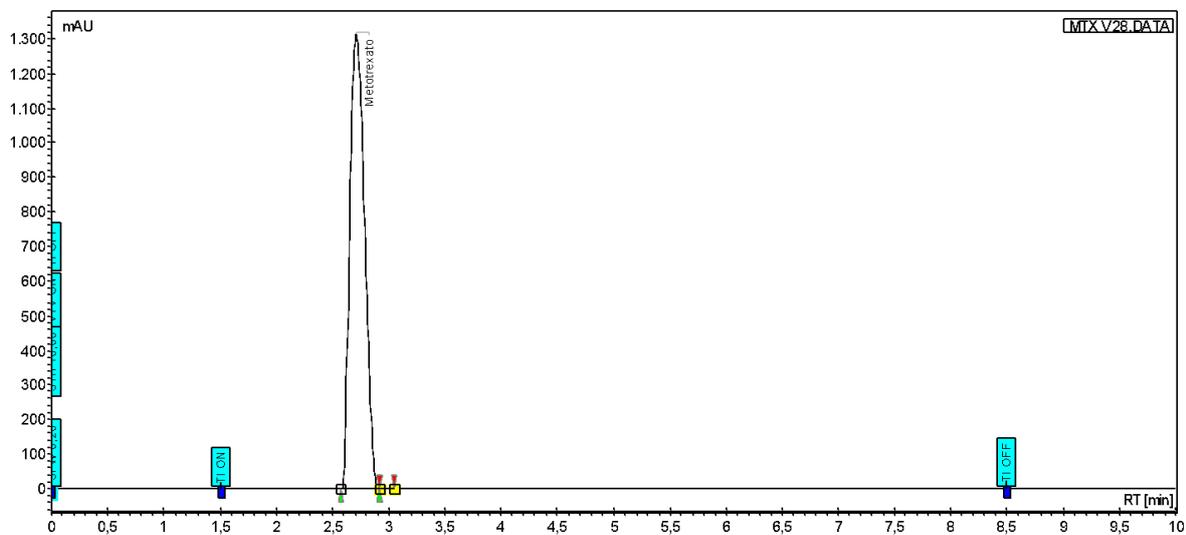


Figura 179. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.75 h

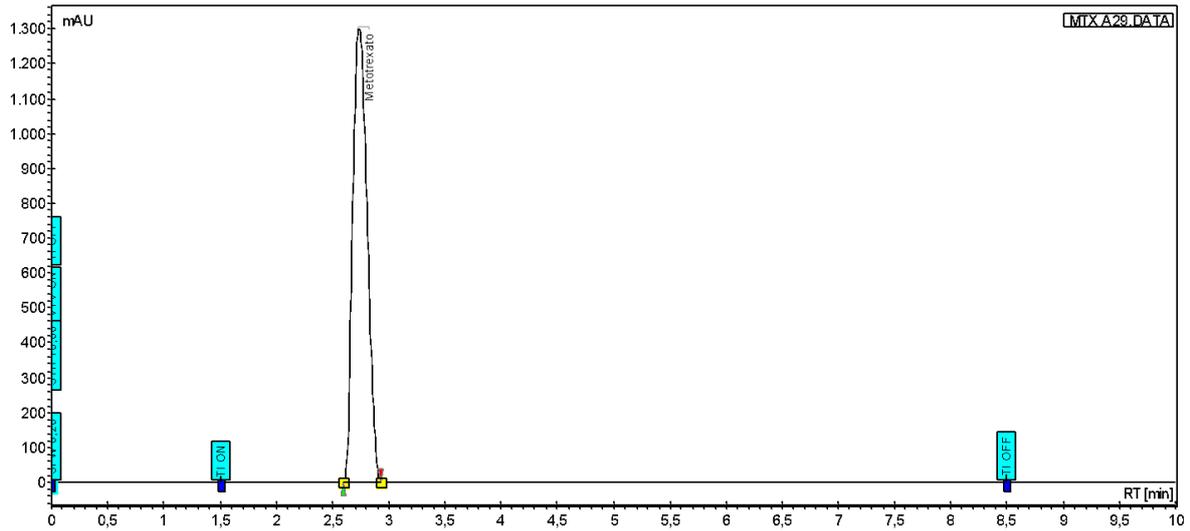


Figura 180. MTX bolsa Flebotek 5 h

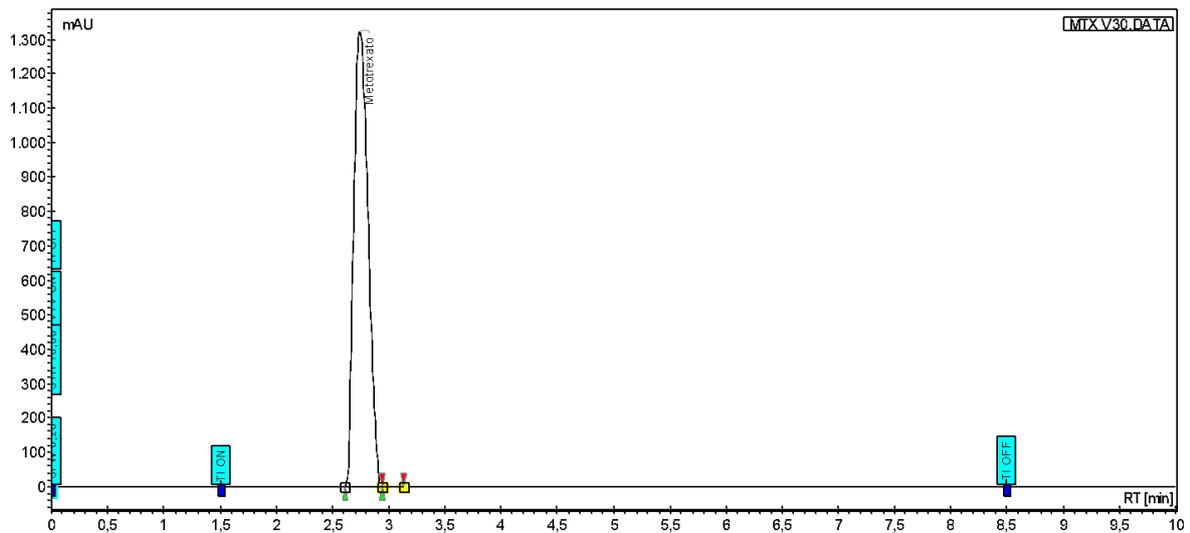


Figura 181. MTX bolsa Intrafix Primeline 5 h

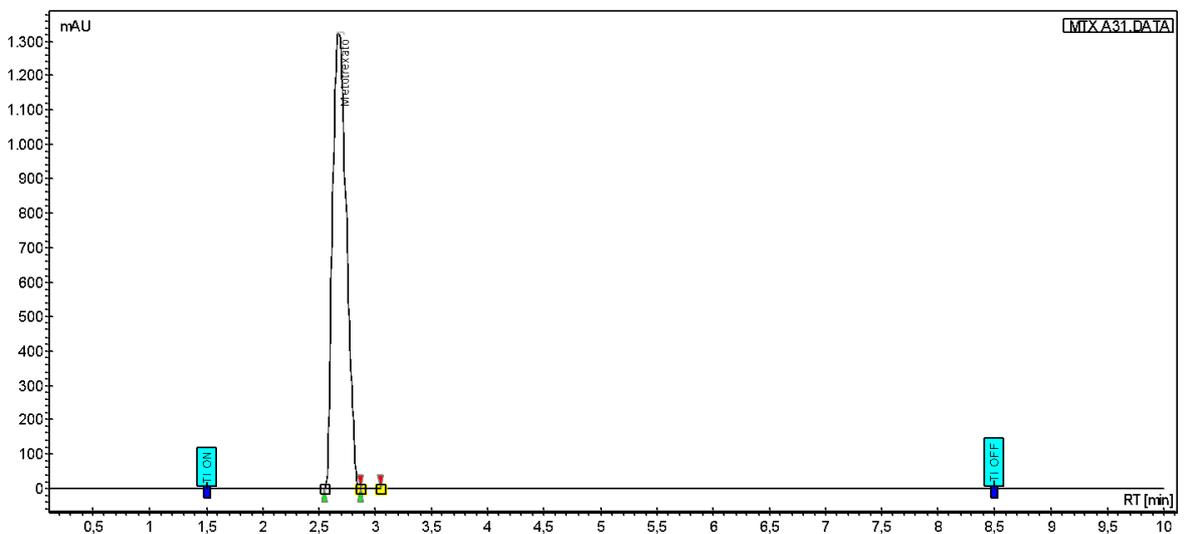


Figura 182. MTX bolsa Flebotek 5.25 h

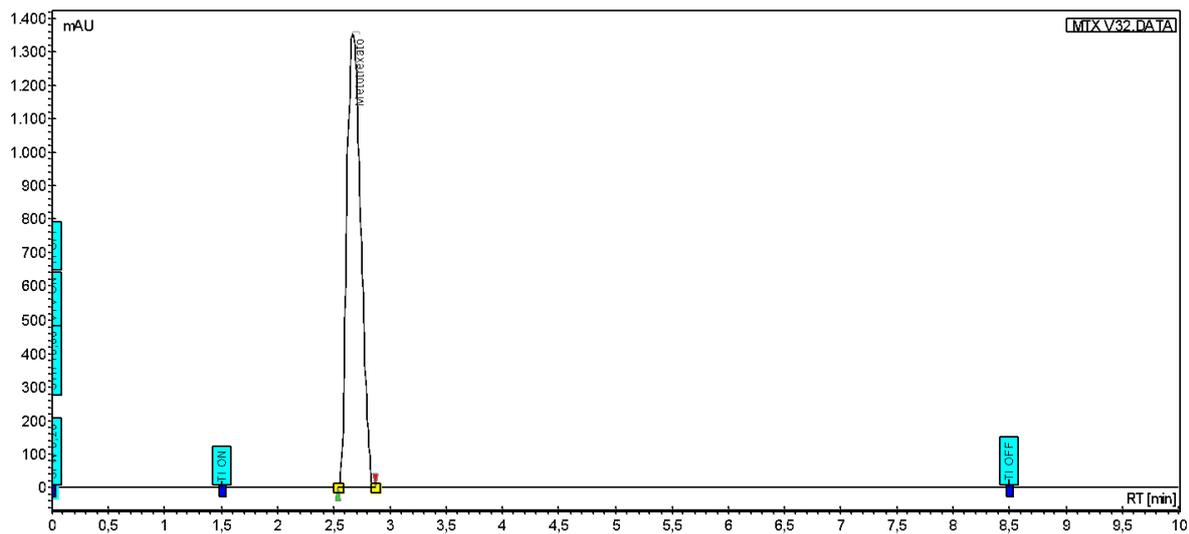


Figura 183. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.25 h

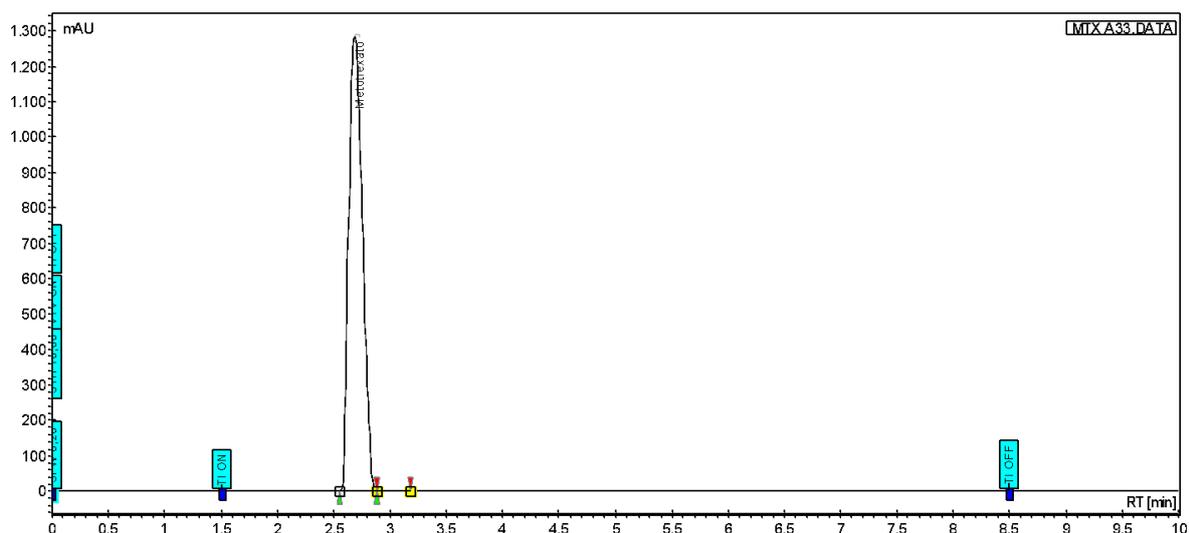


Figura 184. MTX bolsa Flebotek 5.5 h

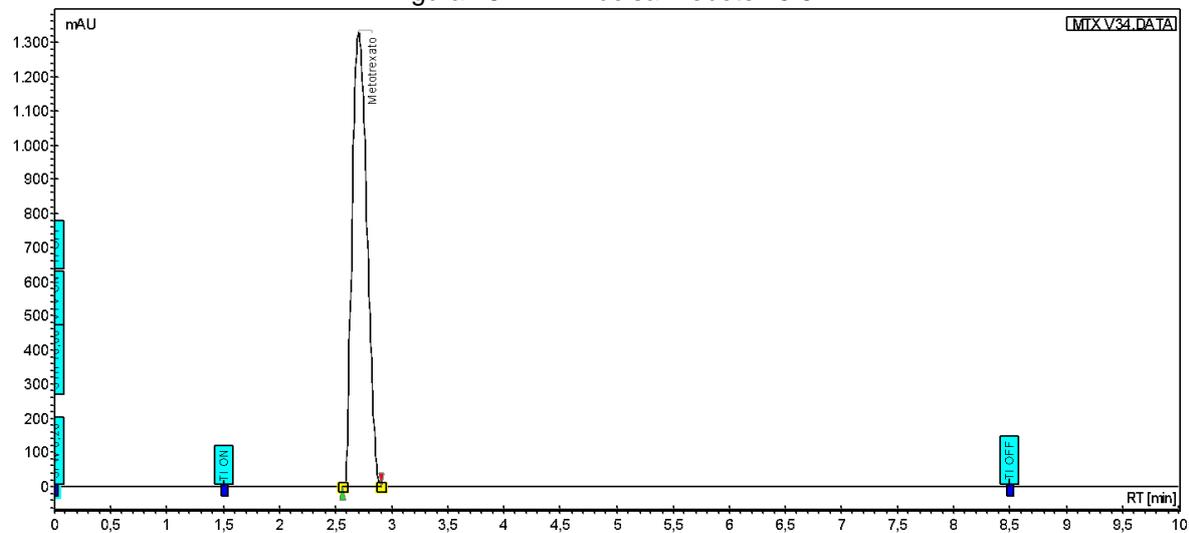


Figura 185. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.5 h

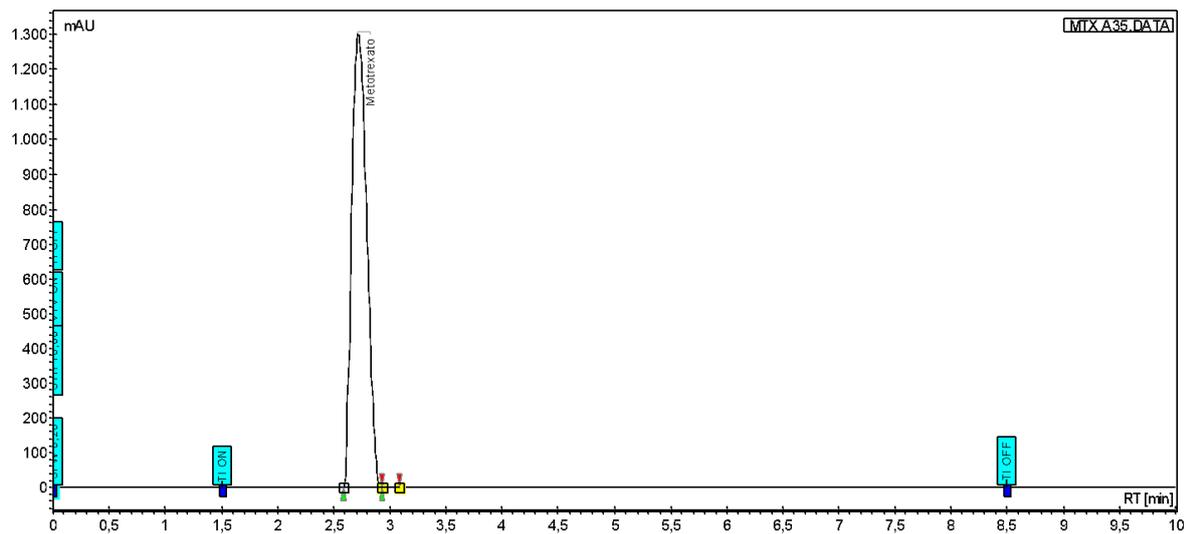


Figura 186. MTX bolsa Flebotek 5.75 h

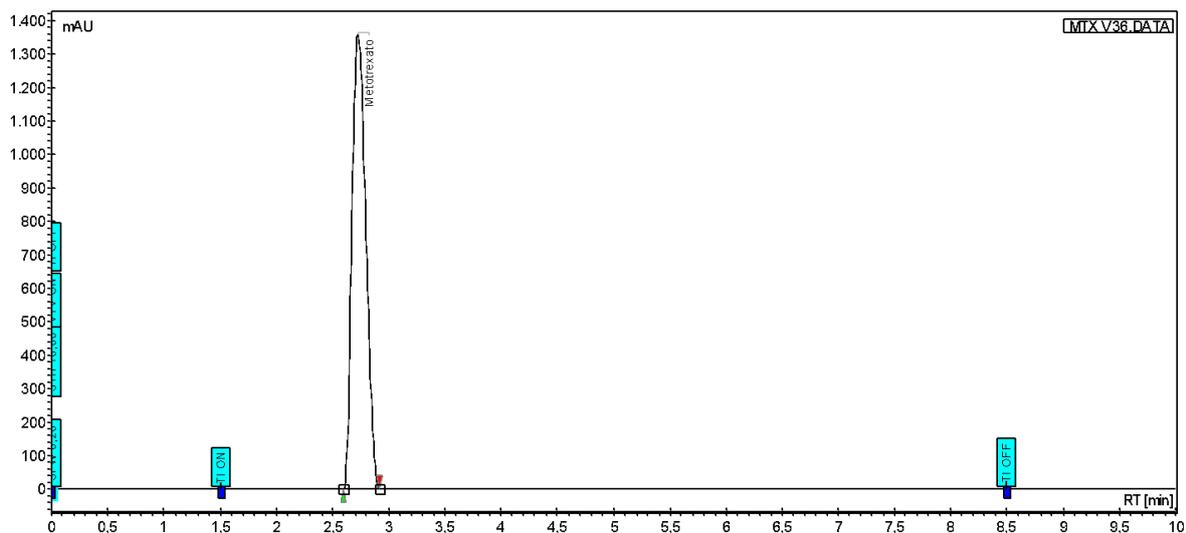


Figura 187. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.75 h

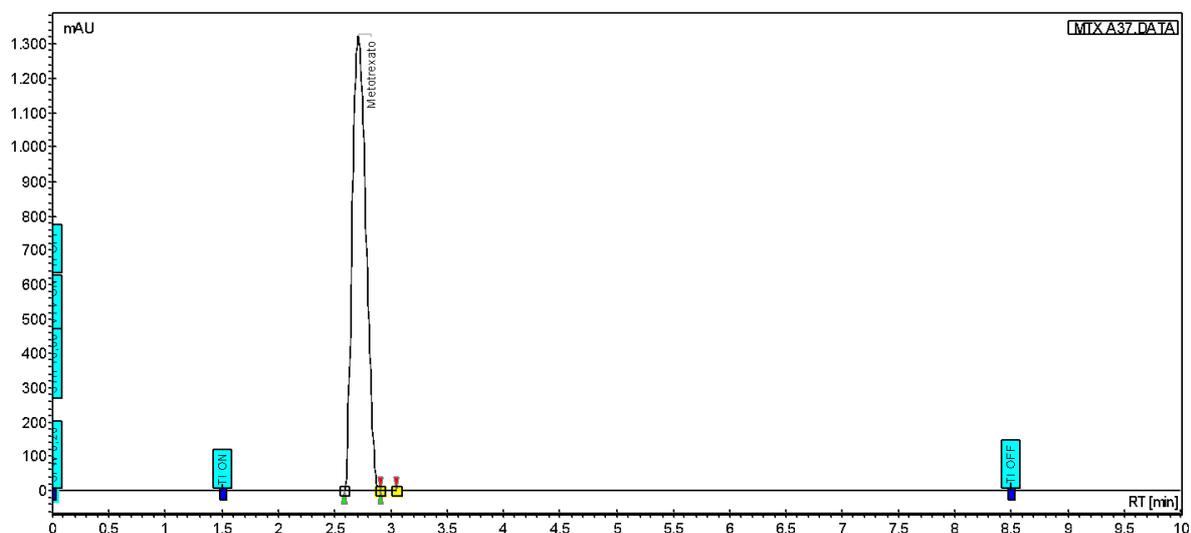


Figura 188. MTX bolsa Flebotek 6 h

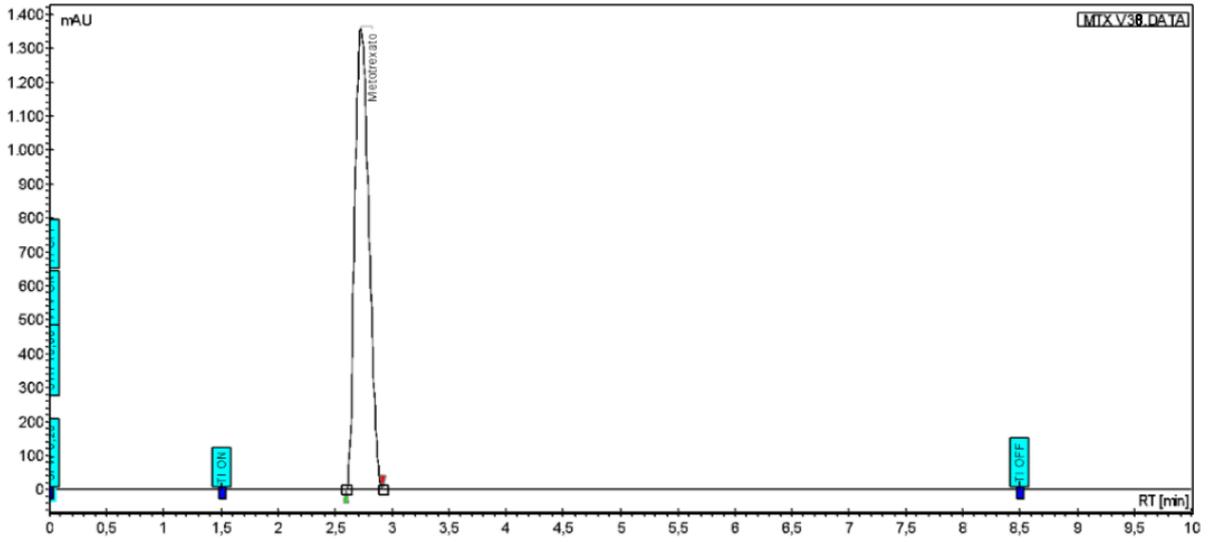


Figura 189. MTX bolsa Intrafix Primeline 6 h

Lectura a 259 nm

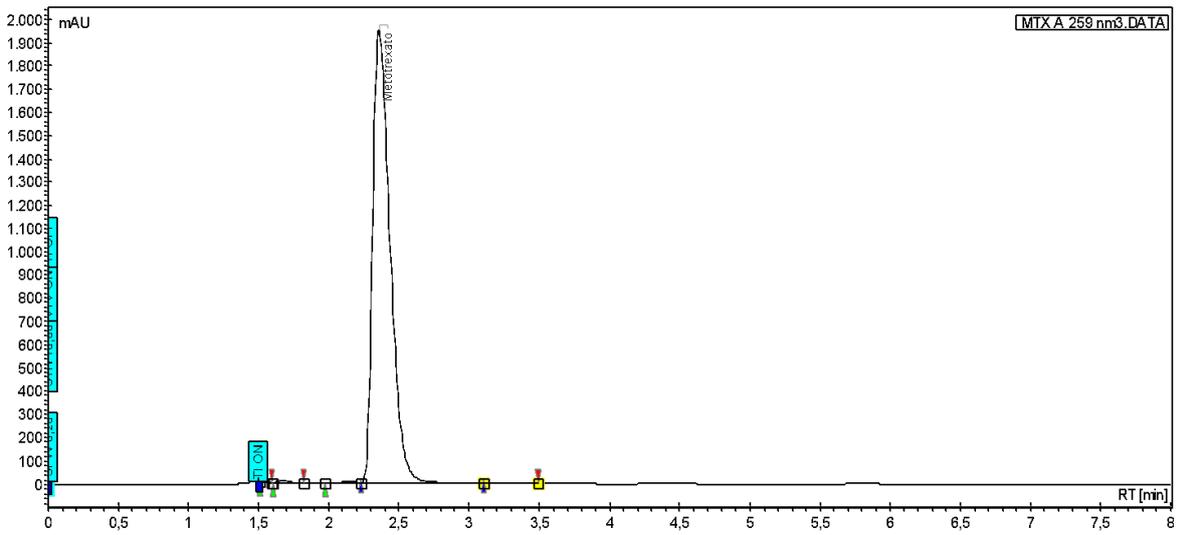


Figura 190. MTX bolsa Flebotek 0.5 h a 259 nm

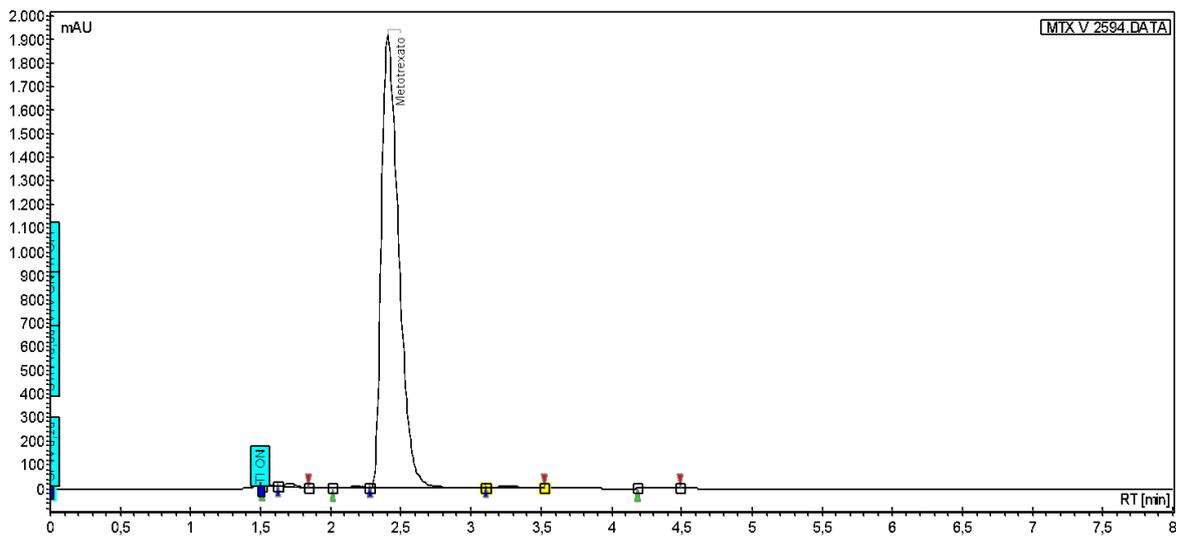


Figura 191. MTX bolsa Intrafix Primeline 0.5 h a 259 nm

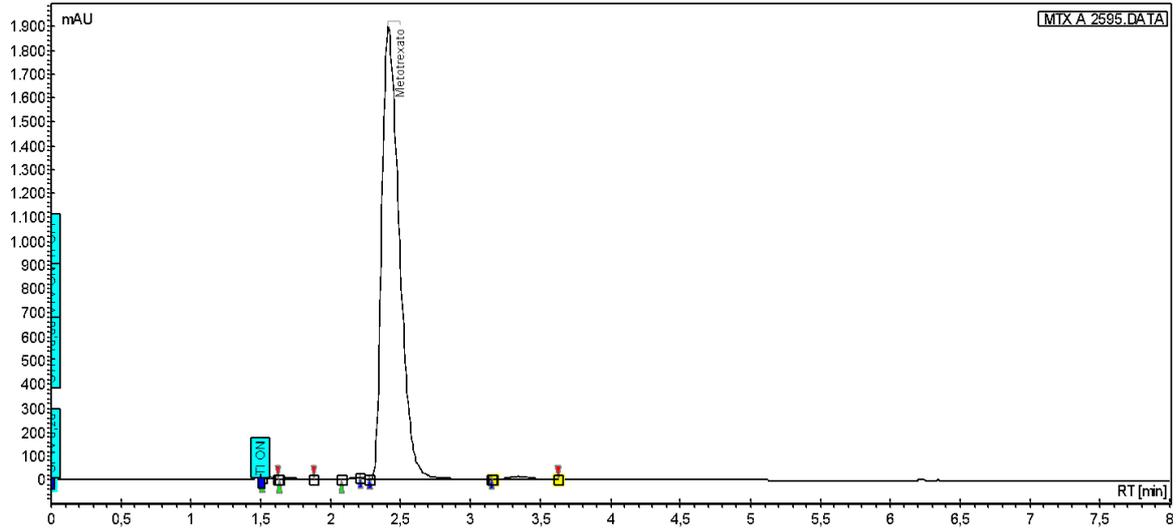


Figura 192. MTX bolsa Flebotek 1 h a 259 nm

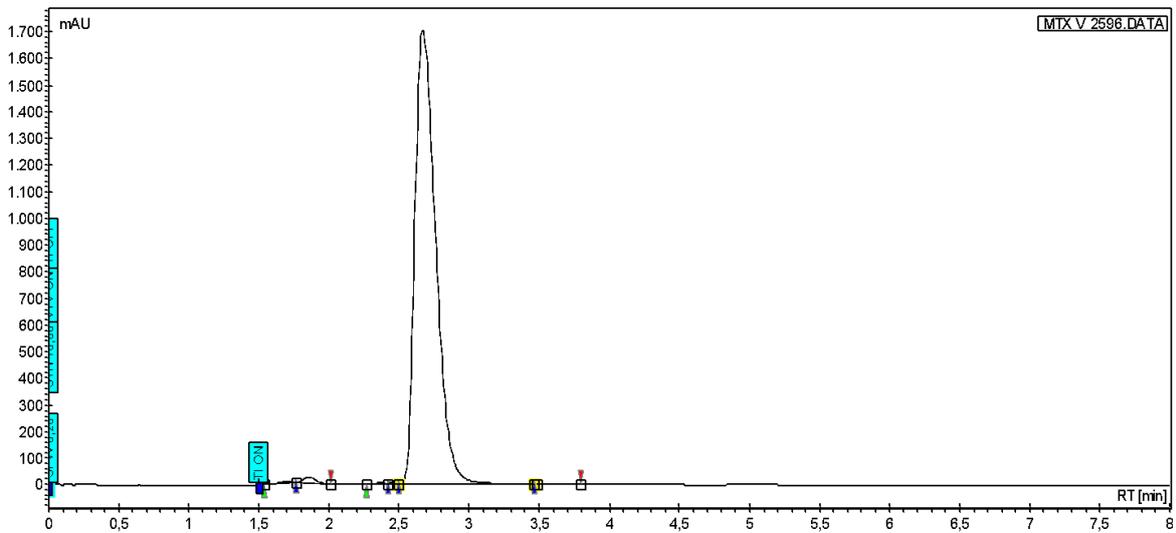


Figura 193. MTX bolsa Intrafix Primeline 1 h a 259 nm

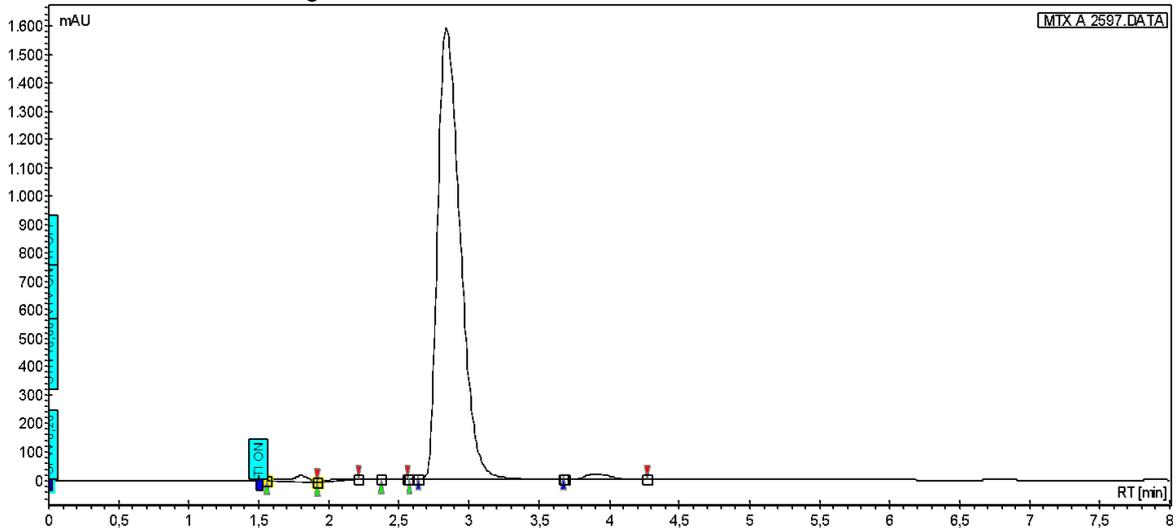


Figura 194. MTX bolsa Flebotek 1.5 h a 259 nm

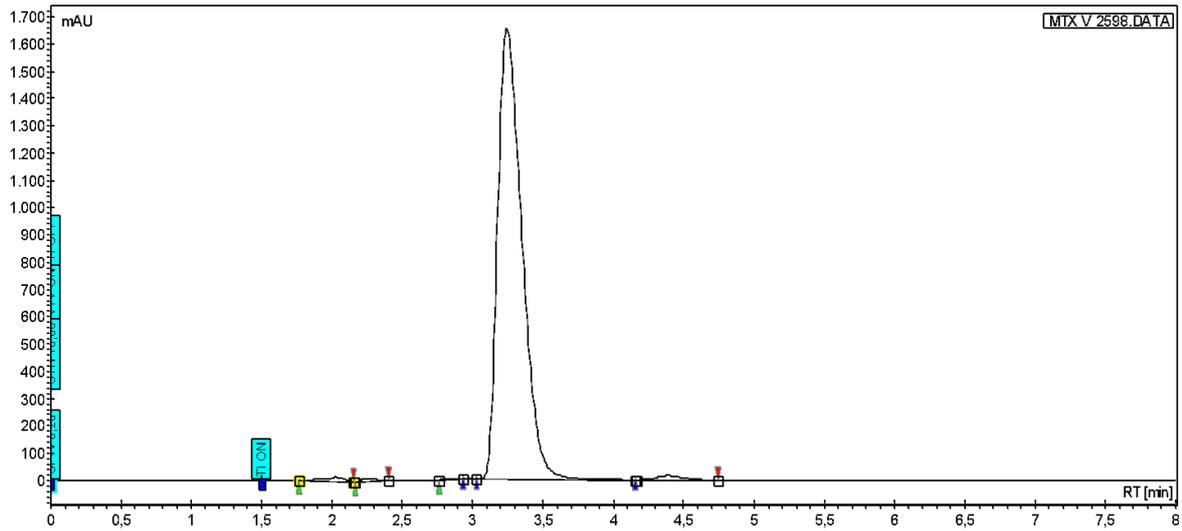


Figura 195. MTX bolsa Intrafix Primeline 1.5 h a 259 nm

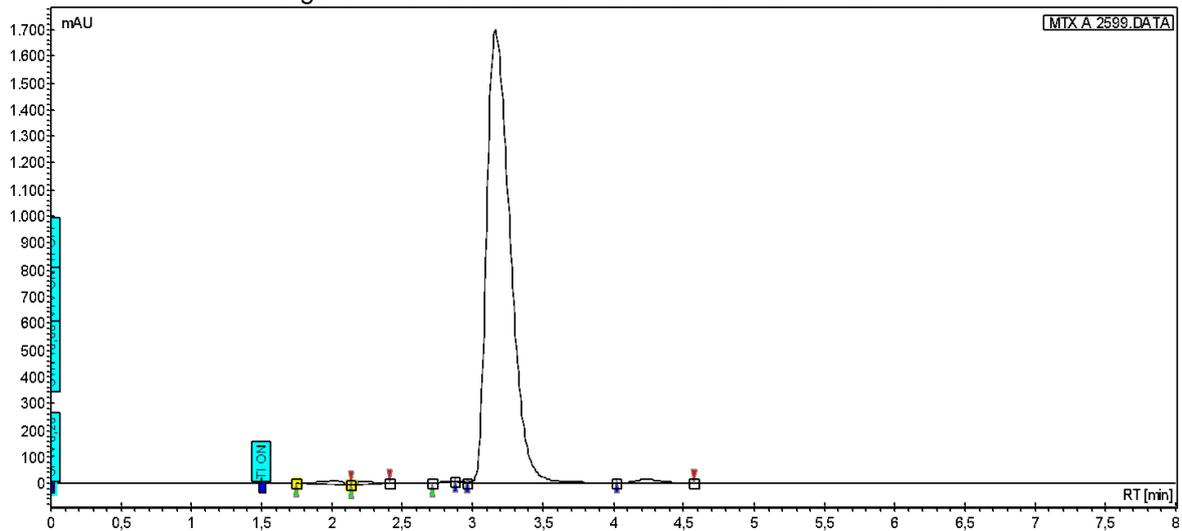


Figura 196. MTX bolsa Flebotek 2 h a 259 nm

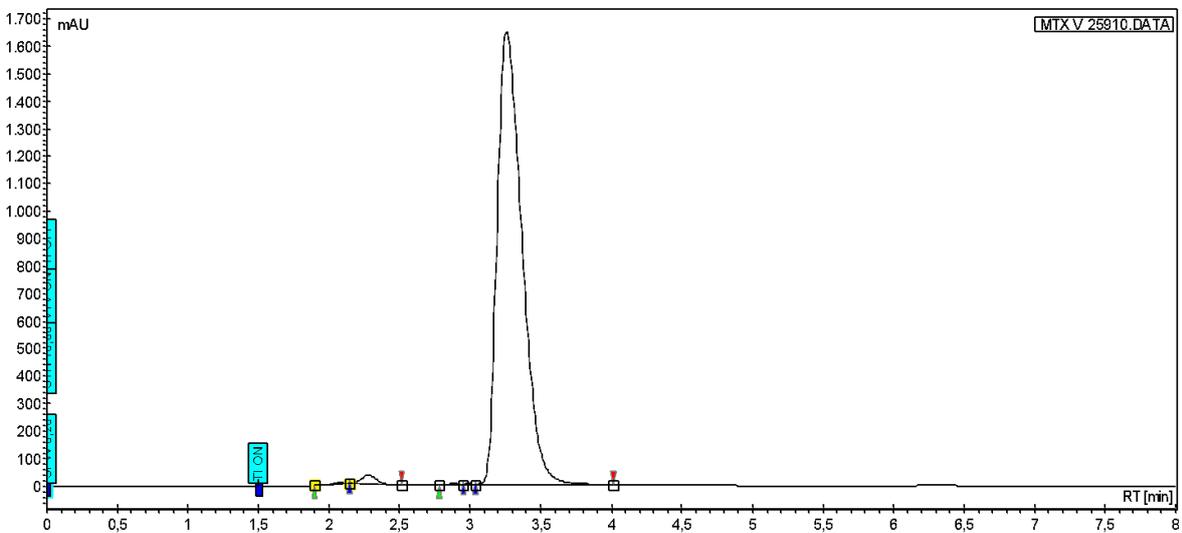


Figura 197. MTX bolsa Intrafix Primeline 2 h a 259 nm

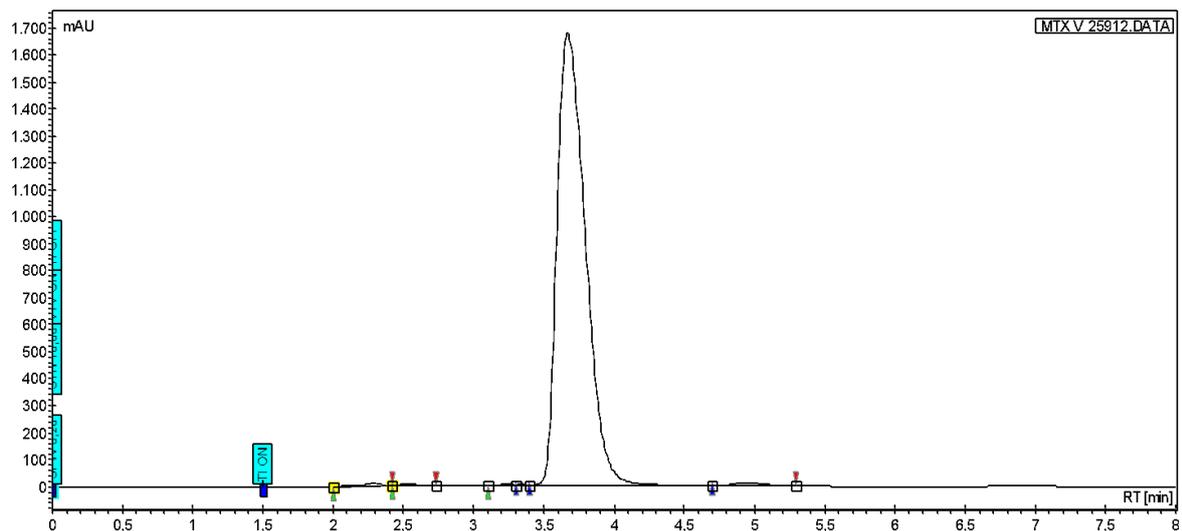


Figura 198. MTX bolsa Flebotek 2.5 h a 259 nm

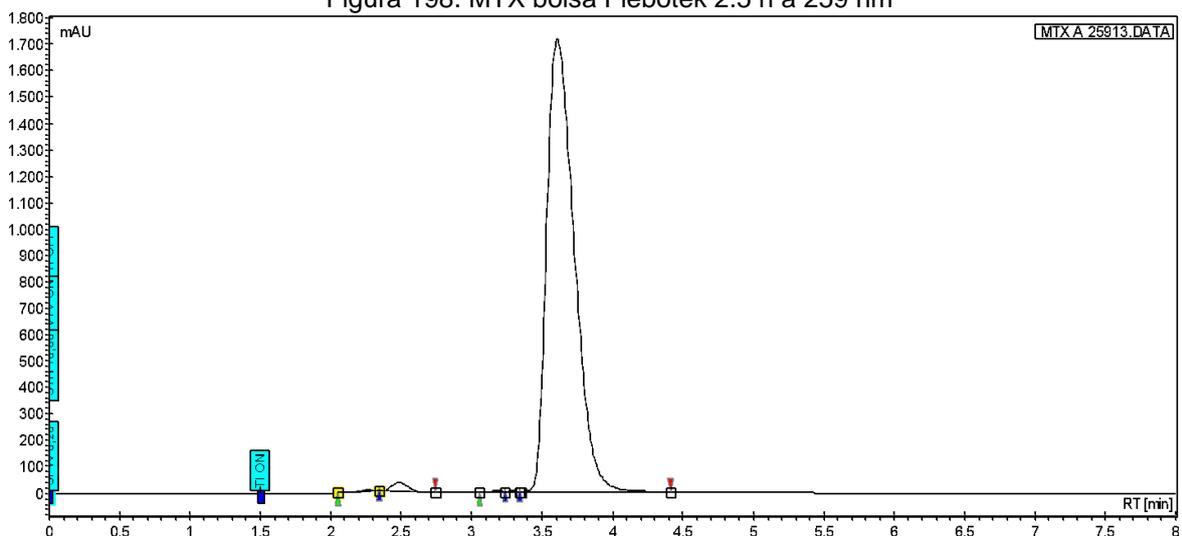


Figura 199. MTX bolsa Intrafix Primeline 2.5 h a 259 nm

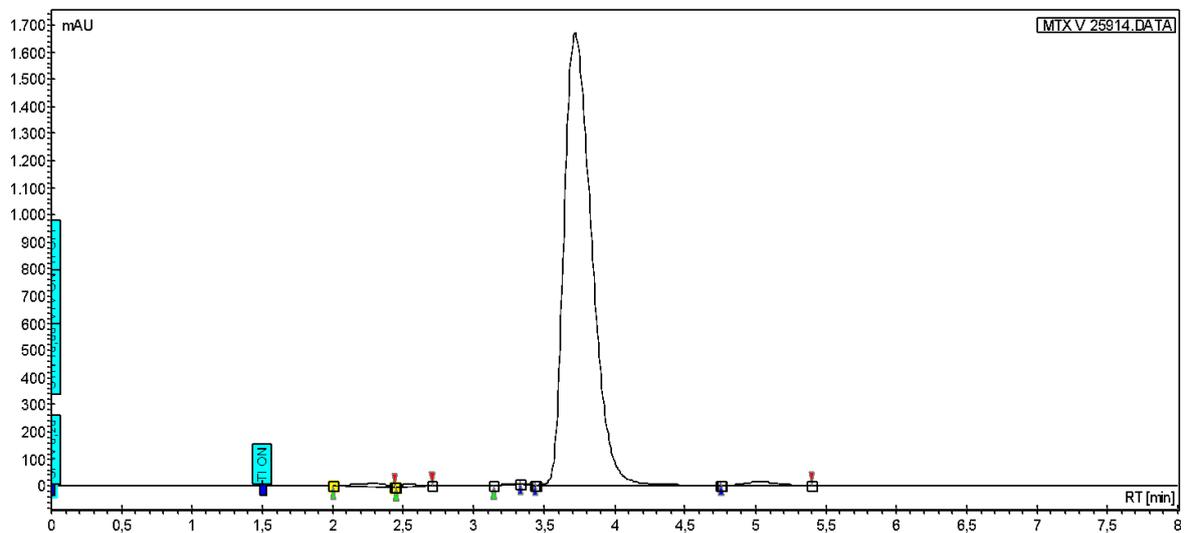


Figura 200. MTX bolsa Flebotek 3 h a 259 nm

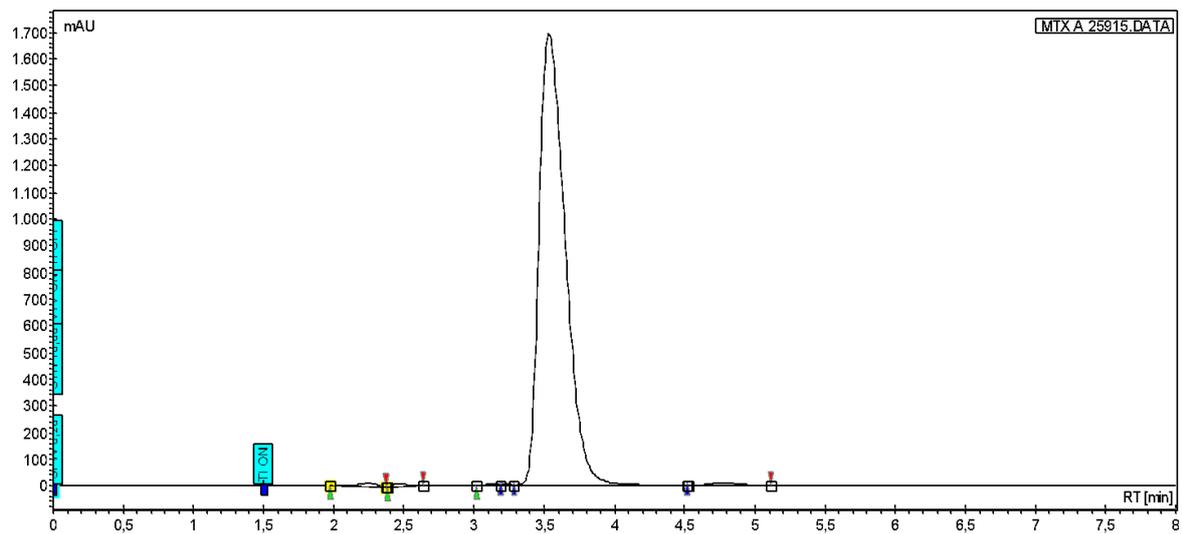


Figura 201. MTX bolsa Intrafix Primeline 3 h a 259 nm

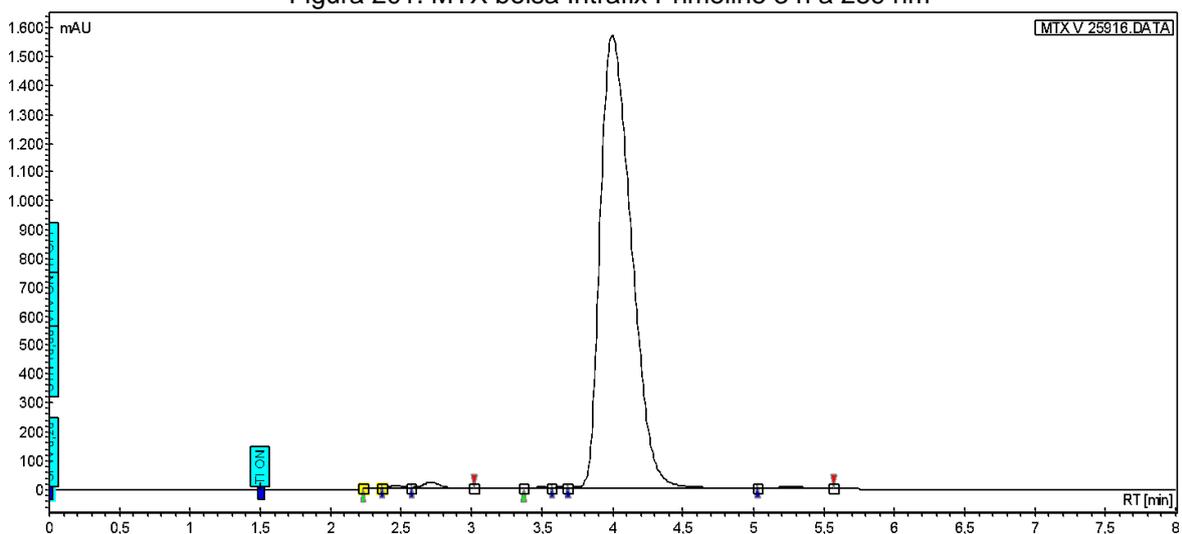


Figura 202. MTX bolsa Flebotek 3.25 h a 259 nm

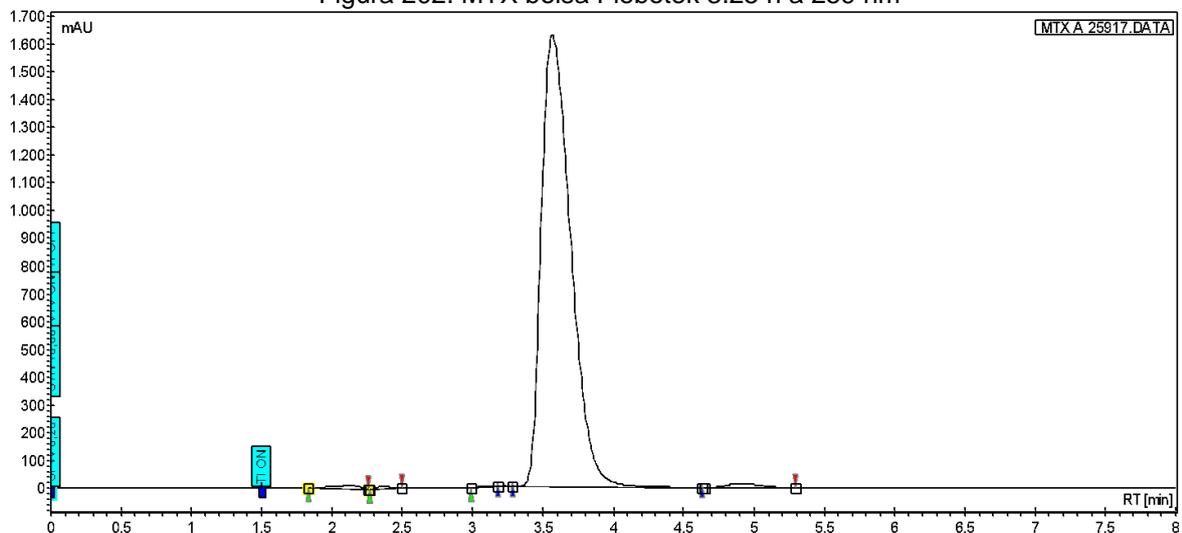


Figura 203. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.25 h a 259 nm

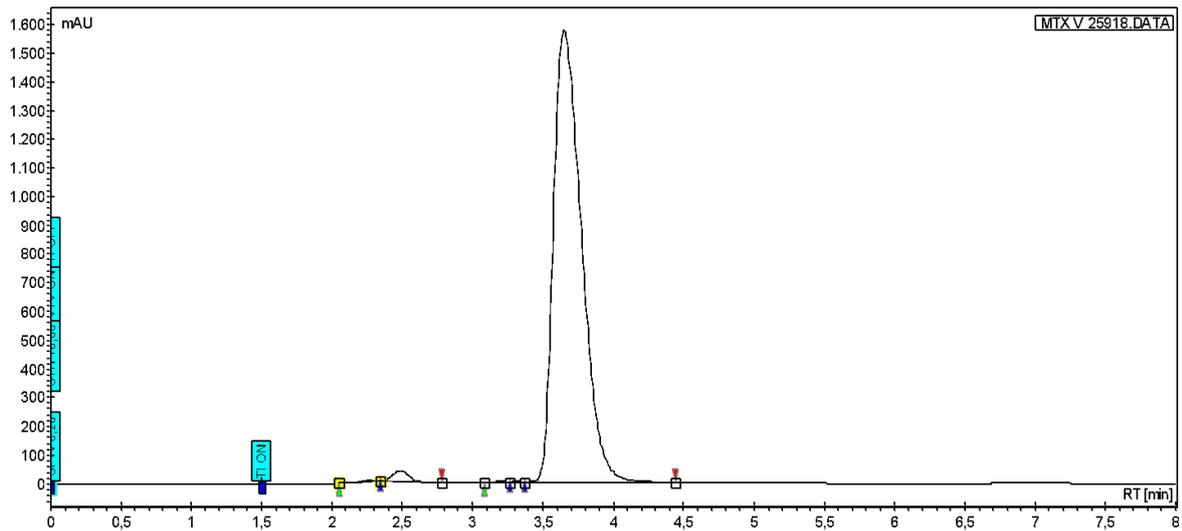


Figura 204. MTX bolsa Flebotek 3.5 h a 259 nm

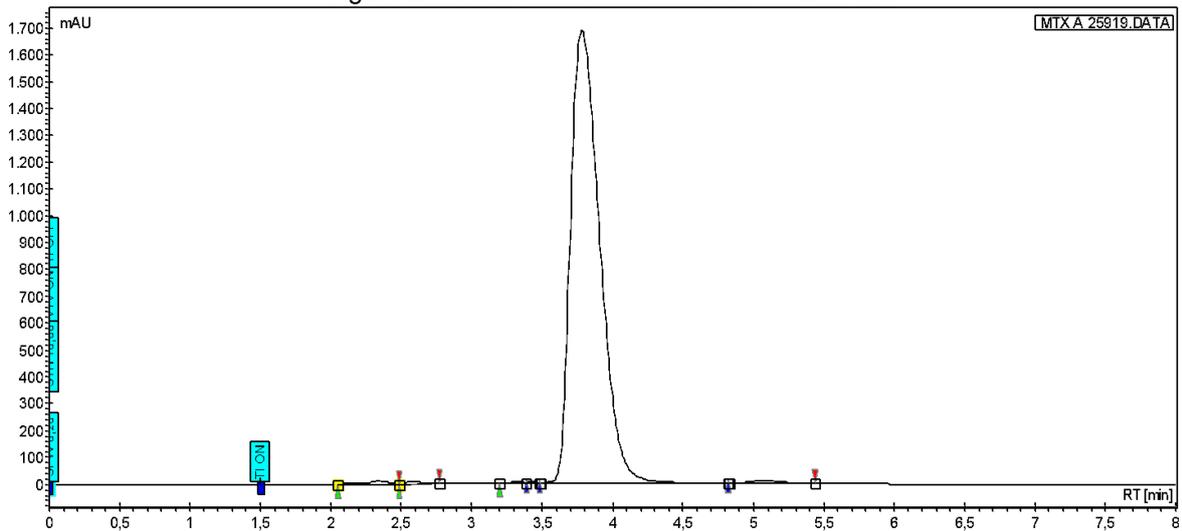


Figura 205. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.5 h a 259 nm

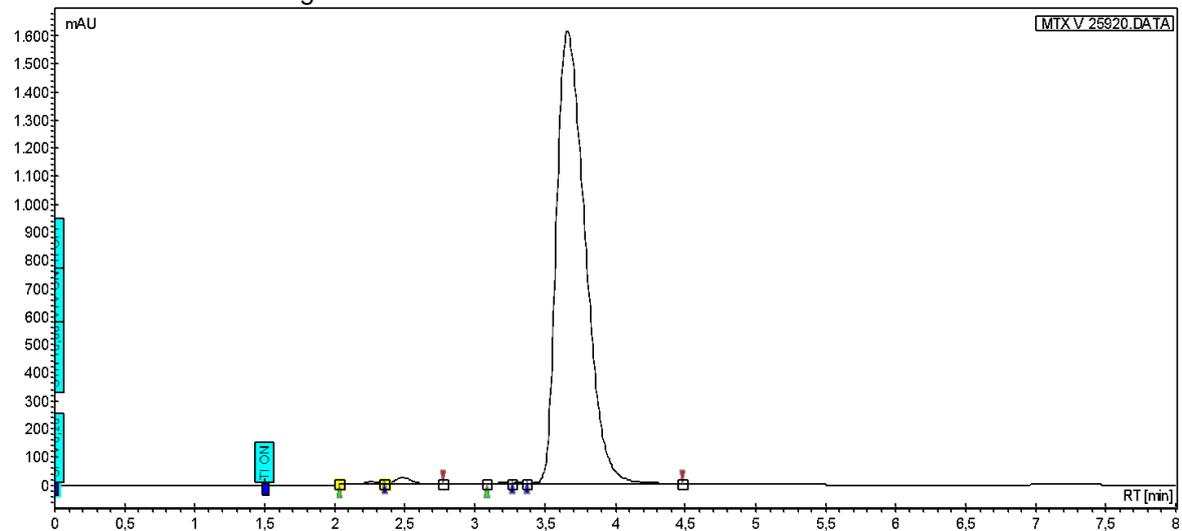


Figura 206. MTX bolsa Flebotek 3.75 h a 259 nm

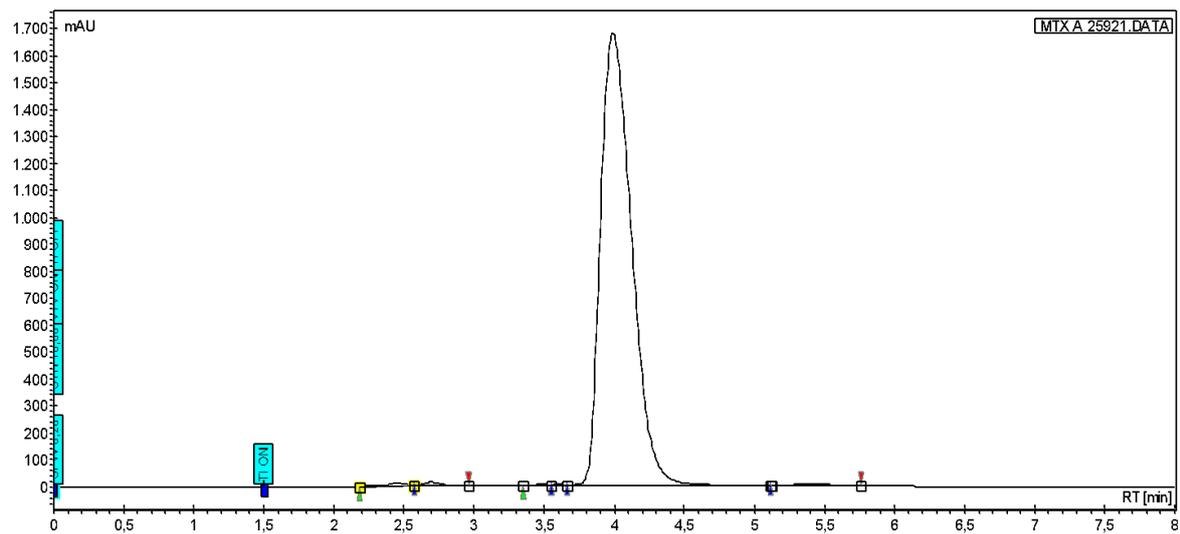


Figura 207. MTX bolsa Intrafix Primeline 3.75 h a 259 nm

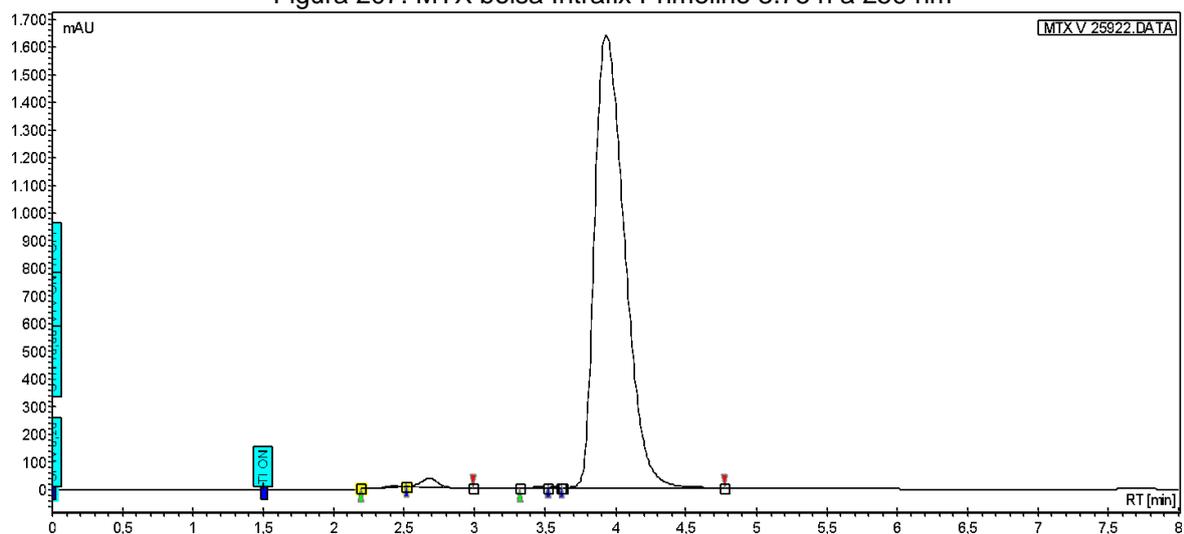


Figura 208. MTX bolsa Flebotek 4 h a 259 nm

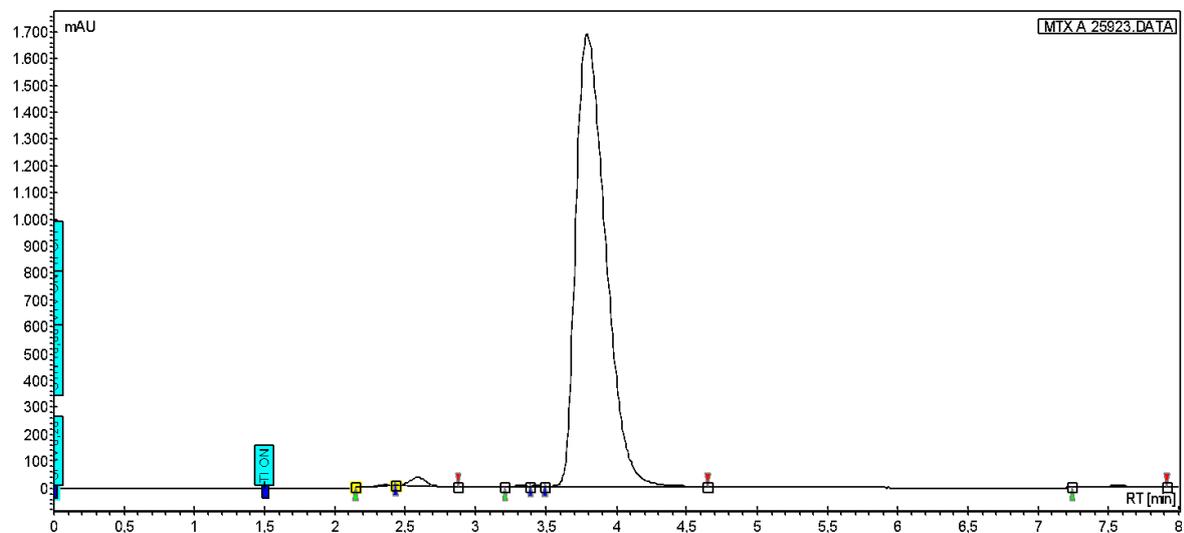


Figura 209. MTX bolsa Intrafix Primeline 4 h a 259 nm

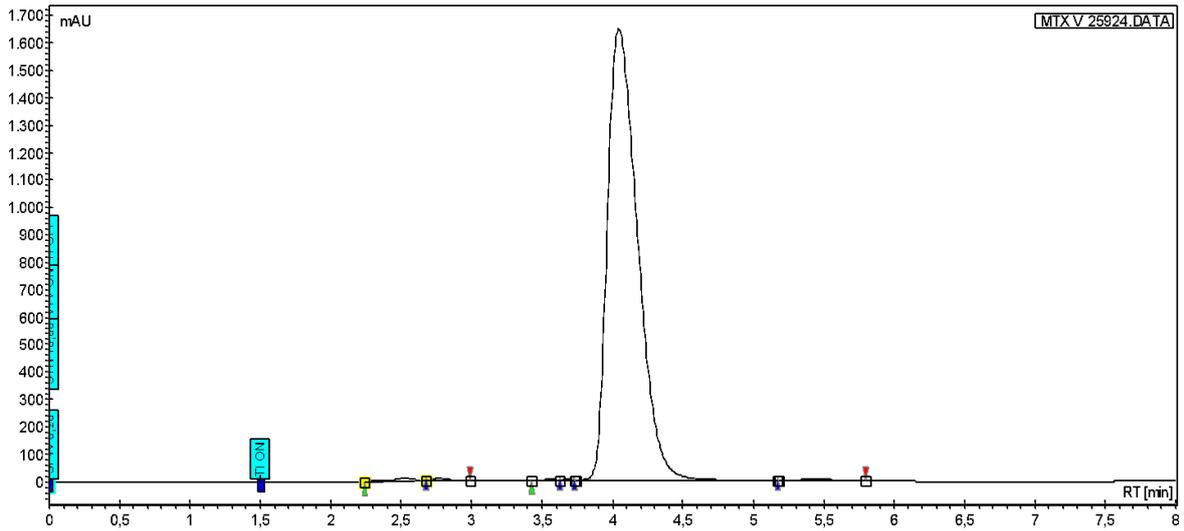


Figura 210. MTX bolsa Flebotek 4.25 h a 259 nm

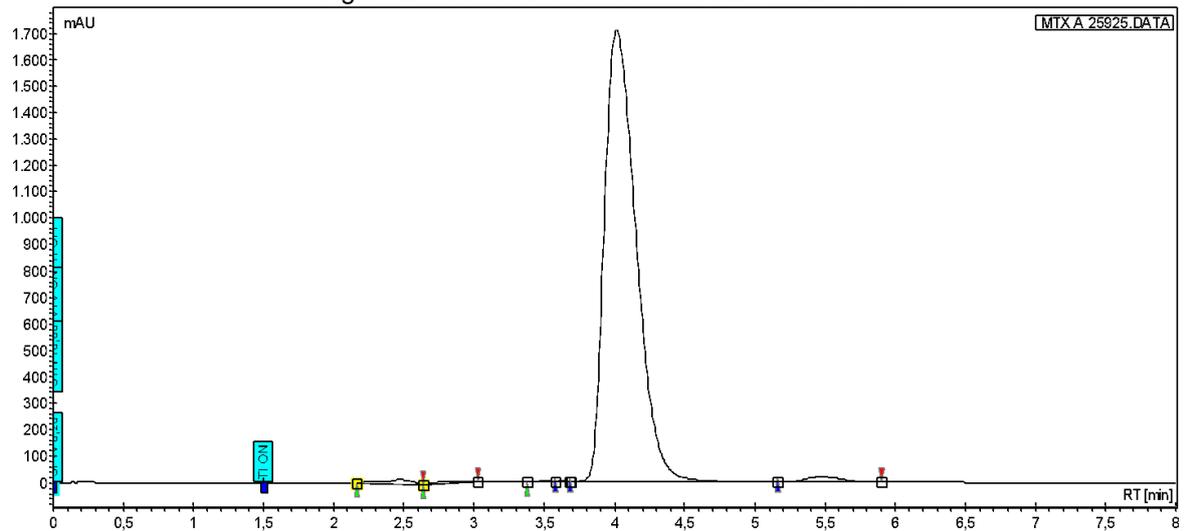


Figura 211. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.25 h a 259 nm

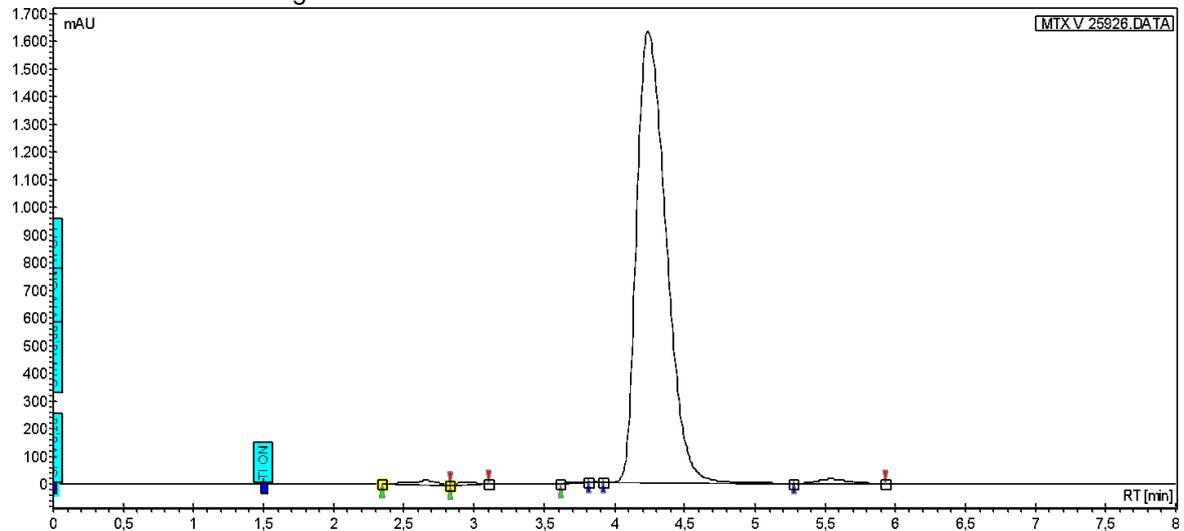


Figura 212. MTX bolsa Flebotek 4.5 h a 259 nm

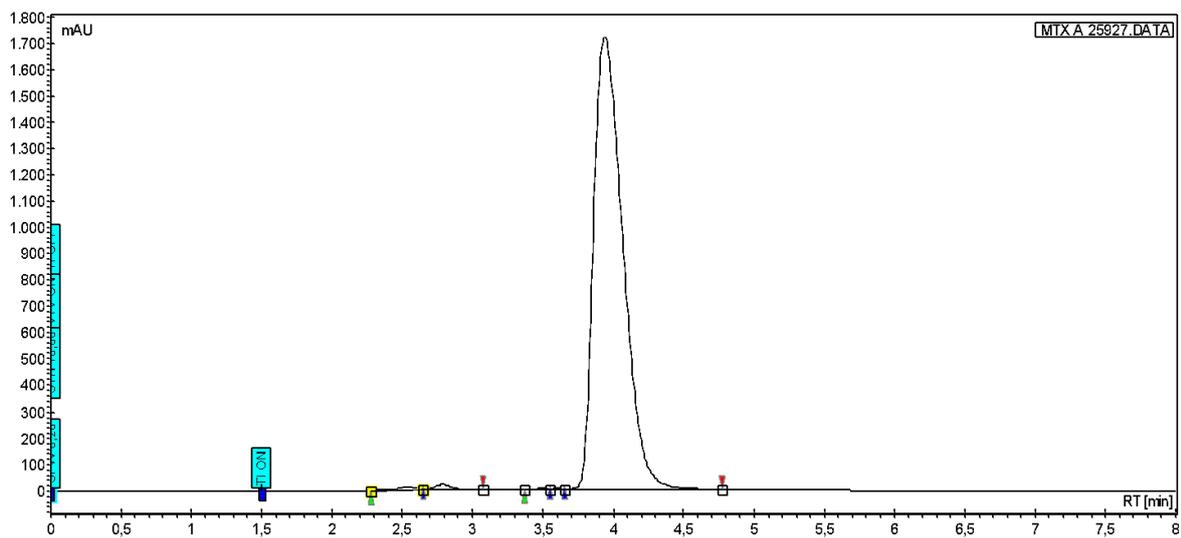


Figura 213. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.5 h a 259 nm

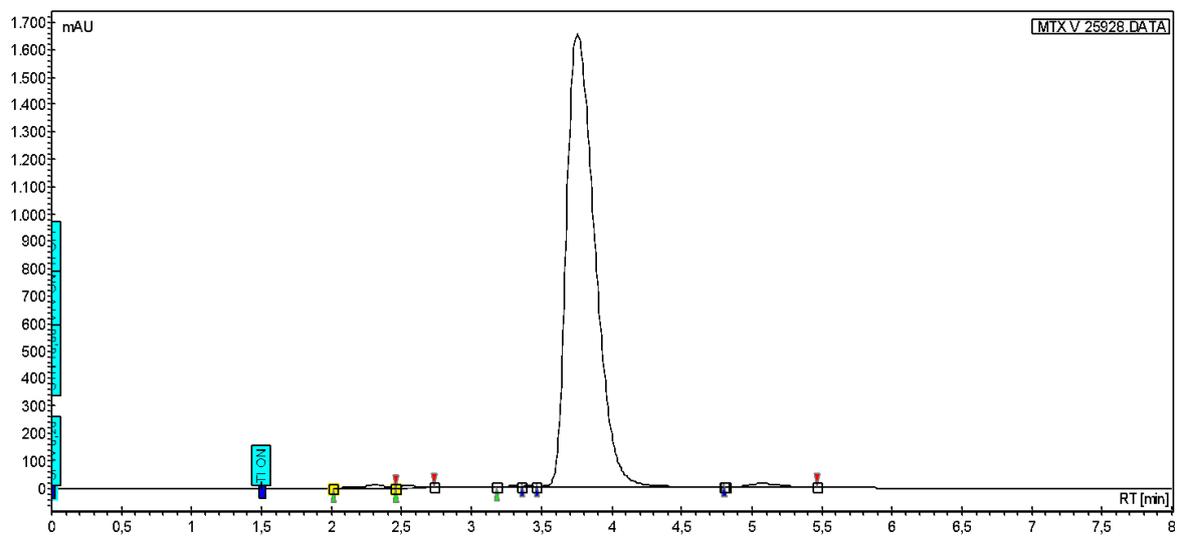


Figura 214. MTX bolsa Flebotek 4.75 h a 259 nm

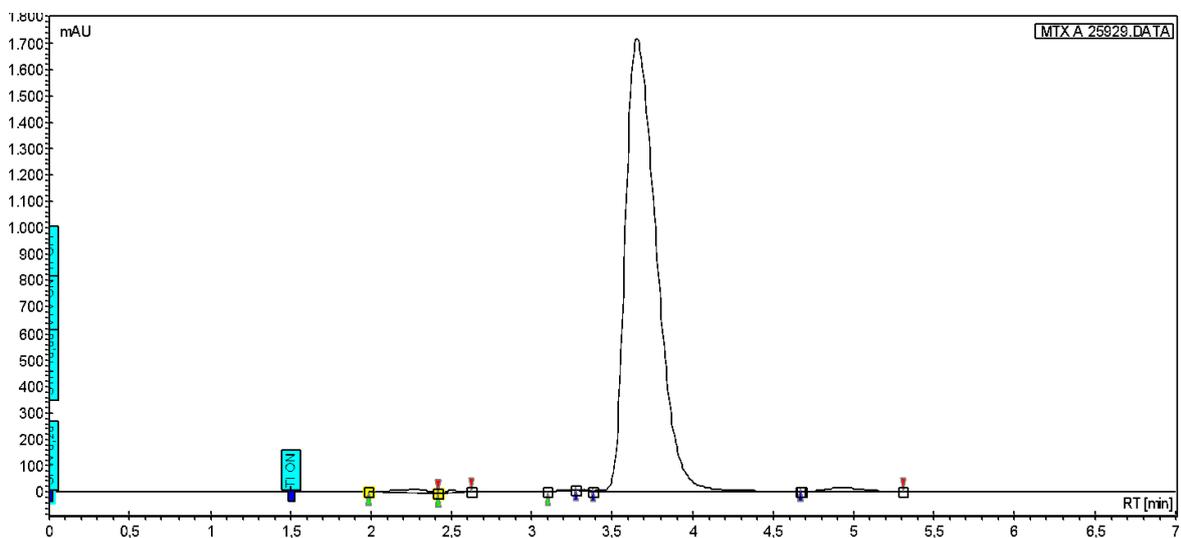


Figura 215. MTX bolsa Intrafix Primeline 4.75 h a 259 nm

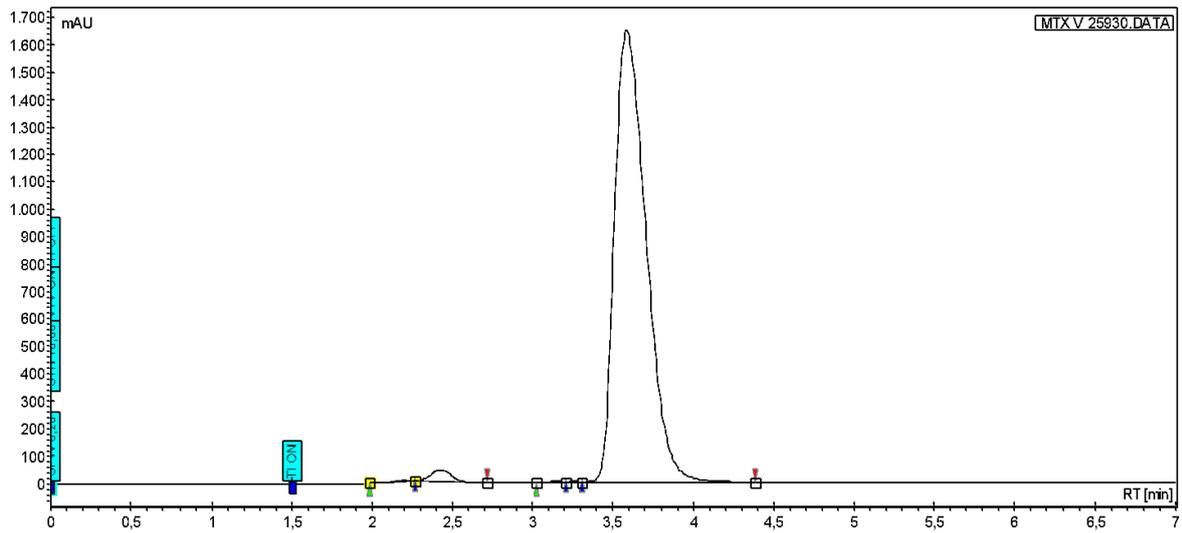


Figura 216. MTX bolsa Flebotek 5 h a 259 nm

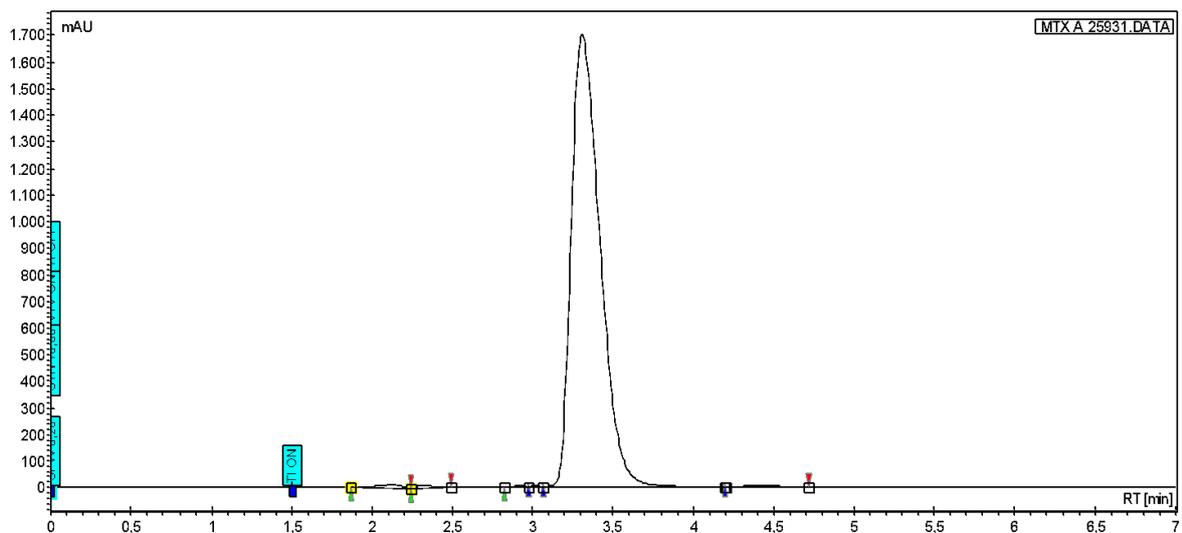


Figura 217. MTX bolsa Intrafix Primeline 5 h a 259 nm

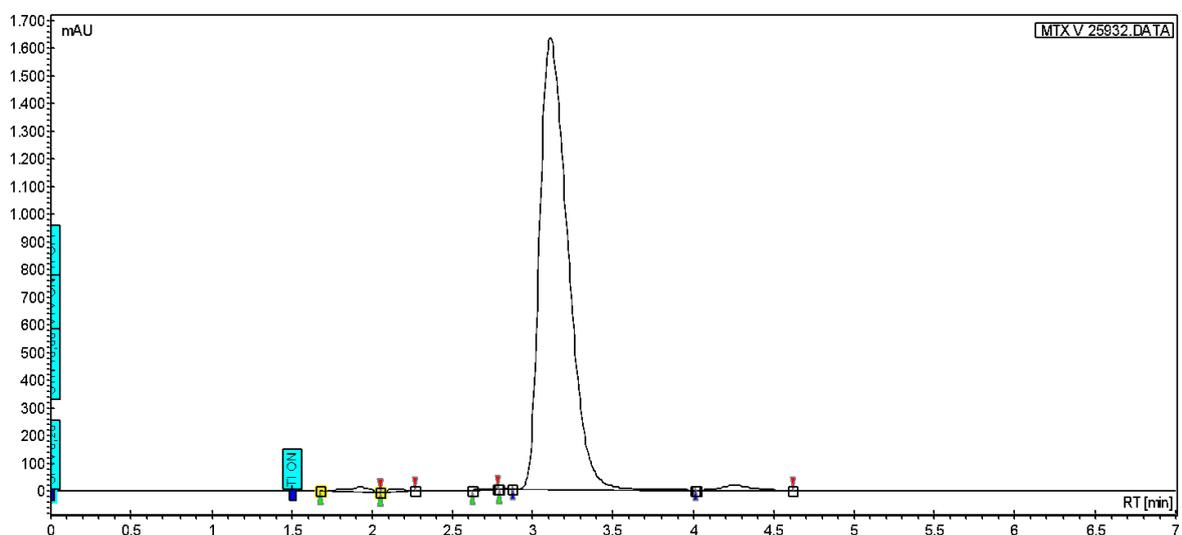


Figura 218. MTX bolsa Flebotek 5.25 h a 259 nm

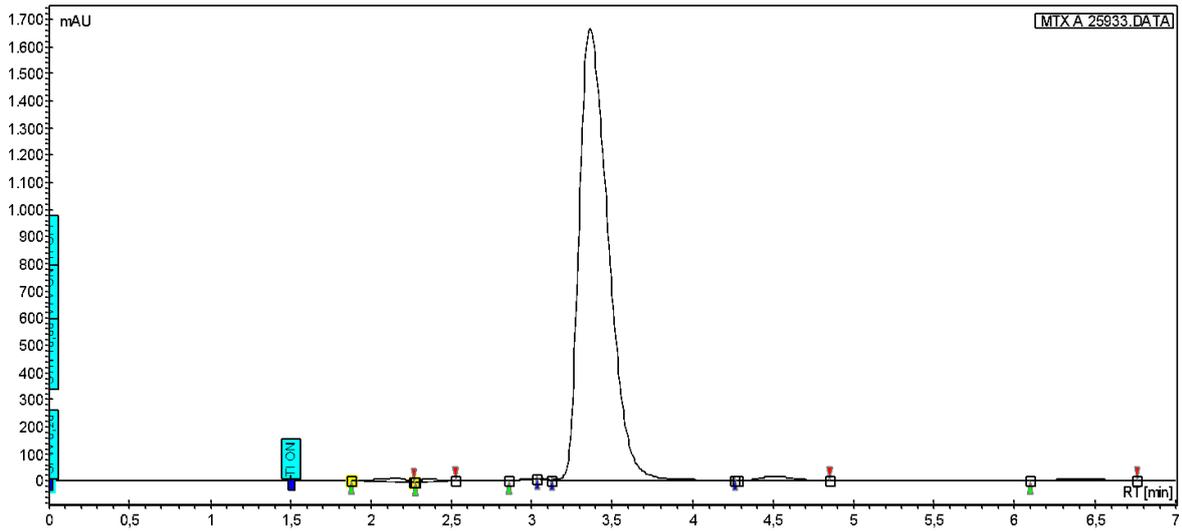


Figura 219. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.25 h a 259 nm

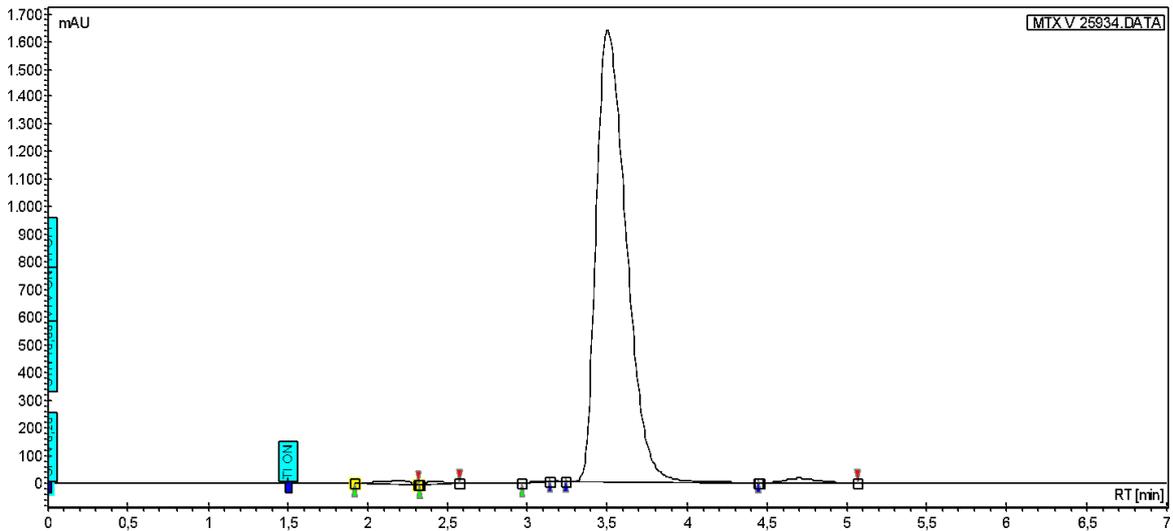


Figura 220. MTX bolsa Flebotek 5.5 h a 259 nm

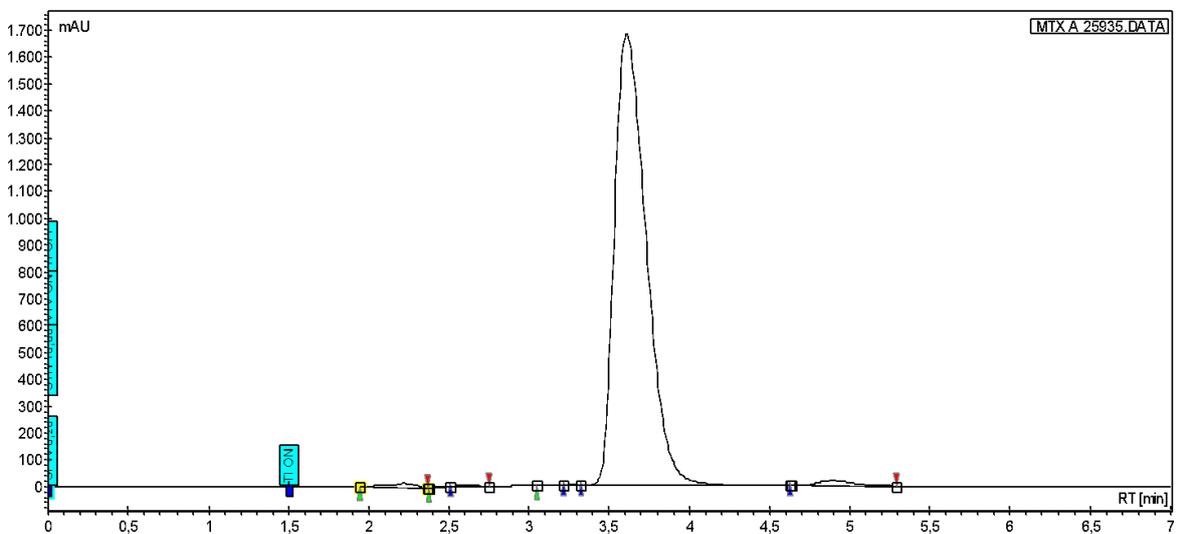


Figura 221. MTX bolsa Intrafix Primeline 5.75 h a 259 nm

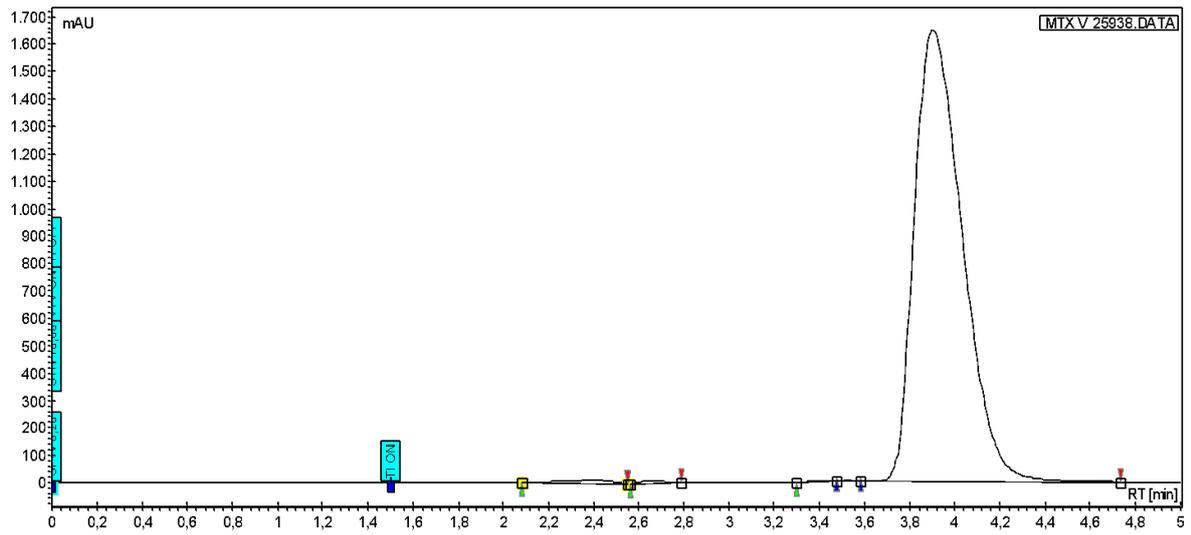


Figura 222. MTX bolsa Flebotek 6 h a 259 nm

7. Discusión de resultados

Conforme a los resultados obtenidos en los cromatogramas, se logra observar que no hay un cambio en las muestras expuestas a luz, incluso, después de 6 horas no se logra observar una segunda señal que indique la presencia de un producto de degradación debido a que las muestras no fueron sometidas a ninguna condición de estrés. Lo anterior se aprecia cuando se compara el estándar y las muestras, en ambos casos no se muestra ninguna otra señal de interés.

En la figura 5 se aprecia el cromatograma del estándar de metotrexato, en este se observa un tiempo de retención es de 3.31 min, un área de 179.7 mUA.min, y 2.13 de factor de asimetría. La figura 6, figura 8, figura 10, figura 12, figura 14, figura 16, figura 18, figura 20, figura 22, figura 24, figura 26, figura 28, figura 30, figura 32, figura 34, figura 36, figura 38 y figura 40 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Flebotek en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en las figuras 34 y 36 con un valor de 3.16 min y el valor máximo observado es de 3.49 min en la figura figura 8. En cuanto a las diferentes áreas bajo la curva obtenidas en estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 204.9 mAU.min en la figura 30 y máximo un valor de 223.3 mAU.min en la figura 14. Acorde con el factor de asimetría se obtuvieron valores por encima de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 2.35 en la figura 36. Las figura 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 y 41 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Intrafix Primeline en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en las figuras 35 y 37 con un valor de 3.17 min y el valor máximo observado es de 3.46 min en la figura figura 7. En cuanto a las áreas bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 194.3 mAU.min en la figura 9 y máximo un valor de 222.9 mAU.min en la figura 29. Conforme con el factor de asimetría se obtuvieron valores por encima de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 2.26 en la figura 38. Todos los cromatogramas mencionados se obtuvieron en el día 1 del estudio, de acuerdo con lo obtenido no existe la presencia de productos de degradación durante el tiempo en la que las muestras fueron expuestas a la luz. Conforme a lo observado en la figura 5 la señal obtenida del estándar en comparación con el de la muestra no observa otra señal que sea de interés por lo tanto se puede decir que el medicamento permanece estable durante el tiempo establecido (6 h).

En el día 2, en la figura 42 se aprecia el cromatograma del estándar de metotrexato, en este se observa un tiempo de retención es de 3.27 min, un área de 210.3 mUA.min, y 2.45 de factor de asimetría. Las figura 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75 y 77 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Flebotek en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en la figura 73 con un valor de 2.92 min y el valor máximo observado es de 3.26 min en la figura figura 43. En cuanto a las áreas bajo la curva obtenidas existe una variación en los datos dando como mínimo de 243.8 mAU.min en la figura 57 y máximo un valor de 258.3 mAU.min en la figura 43. Según con el factor de asimetría se obtuvieron valores por encima de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 2.56 en la figura 69. La figura 44, figura 46, figura 48, figura 50, figura 52,

figura 54, figura 56, figura 58, figura 60, figura 62, figura 64, figura 66, figura 68, figura 70, figura 72, figura 74, figura 76 y figura 78 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Intrafix Primeline en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en las figuras 72, 74 y 78 con un valor de 2.93 min y el valor máximo observado es de 3.29 min en la figura figura 62. En cuanto a las áreas bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 176.6 mAU.min en la figura 78 y máximo un valor de 244.1 mAU.min en la figura 44. Según con el factor de asimetría se obtuvieron valores por encima de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 2.57 en la figura 72.

En el día 3, figura 79 se aprecia el cromatograma del estándar de metotrexato, en este se observa que el tiempo de retención es de 3.33 min, un área de 213.4 mUA.min, y 2.62 de factor de asimetría. La figura 80, figura 82, figura 84, figura 86, figura 88, figura 90, figura 92, figura 94, figura 96, figura 98, figura 100, figura 102, figura 104, figura 106, figura 108, figura 110, figura 112 y figura 114 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Flebotek en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en la figura 102 con un valor de 3.32 min y el valor máximo observado es de 3.43 min en la figura figura 96. En cuanto a las áreas bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 269.2 mAU.min en la figura 84 y máximo un valor de 281.4 mAU.min en la figura 98. Conforme al factor de asimetría se obtuvieron valores por encima de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 2.71 en la figura 112. Las figura 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113 y 115 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Intrafix Primeline en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en la figura 97 con un valor de 3.29 min y el valor máximo observado es de 3.42 min en la figura figura 93. En cuanto al área bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 273.9 mAU.min en la figura 101 y máximo un valor de 287.8 mAU.min en las figuras 81 y 115. En ell factor de asimetría se obtuvieron valores por encima de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 2.73 en la figura 111.

Los datos de tiempo de retención de ambas marcas son muy similares siendo que la marca Flebotek reporta un tiempo de retención promedio de 3.265 min, y la marca Intrafix Primeline reporta 3.2616 min, pero los datos de área bajo la curva se diferencian bastante ya que Flebotek reporta 221.35 mUA.min de área mientras que la marca Intrafix Primeline 203.85 mUA.min, indicando datos mayores en las muestras obtenidas de la marca Flebotek lo que se debe una dosis mayor de metotrexato administrada en la Venoclisis de la marca por una incorrecta toma de medicamento. Estos datos nos indican que el analista es un factor de interés para este experimento por lo cual se debe tomar con mayor exactitud la dosis de metotrexato. Es de suma importancia la preparación de la solución para el análisis que va desde la pesada de las sales para la fase móvil, el volumen de los solventes, ajuste de pH, así como filtrar las muestras.

En el día 1 y 2 se logra apreciar que el tiempo de retención va disminuyendo conforme aumenta el tiempo de exposición al sol de las muestras, sin embargo, en el día 3 los tiempos de retención tienen un comportamiento más variado y a la vez más cercano al tiempo de

retención de la muestra estándar de MTX. Si bien esto pudo deberse a que la presencia de luz solar era diferente cada día. Por lo tanto, se propuso utilizar un luxómetro que nos ayudó con la medición de la intensidad de luz durante el experimento y así saber qué tanto afecta al resultado obtenido de las muestras.

En ambos días los coeficientes de variación son altos, pero, en el día 2 ($CV_{\text{Flebotek}}=1.194$, $CV_{\text{Intrafix Primeline}}=7.432$) los coeficientes de variación son mucho mayores que en el día 1 ($CV_{\text{Flebotek}}=2.672$, $CV_{\text{Intrafix Primeline}}=2.902$). En el día 3 se observa un comportamiento muy similar en cuanto al tiempo de retención y a las áreas bajo la curva ($CV_{\text{Flebotek}}=1.734$, $CV_{\text{Intrafix Primeline}}=1.174$) para las muestras de ambas marcas, puesto que el CV fue menor al 2%. Pero al comparar con el estándar utilizado ese día, nos damos cuenta que existe una diferencia más notoria en el área, esto indica que hay mayor cantidad de MTX en la solución preparada para las bolsas de venoclisis.

Al observar los cromatogramas de los días 1, 2 y 3 se puede identificar un ligero cóleo, por otro lado es importante mencionar que se obtuvieron valores más altos de asimetría en el día 3 lo que nos puede indicar alguna contaminación en la columna, lo que puede deberse a que la preparación de las muestras contienen glucosa y bicarbonato de sodio y estos pueden solidificarse y conseguir que se forme un tapón en la columna. Otra causa que se puede encontrar es el envejecimiento de esta, saturación, presión, etc. La presencia del cóleo en los picos de un cromatograma, particularmente en el análisis de sustancias básicas, puede ocurrir por la existencia de grupos silanol en la columna. Al darse cuenta de esto, se propuso un lavado más extenso al término de la corrida, y también se realizó un lavado invirtiendo la columna durante 6 horas con un flujo de 0.2 mL/min.

En el día 4, figura 116 se aprecia el cromatograma del estándar de metotrexato, en este se observa que el tiempo de retención es de 3.23 min, un área de 231.1.4 mUA.min, y 1.24 de factor de asimetría. Las figura 117, figura 119, figura 121, figura 123, figura 125, figura 127, figura 129, figura 131, figura 133, figura 135, figura 137, figura 139, figura 141, figura 143, figura 145, figura 147, figura 149 y figura 151 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Flebotek en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en la figura 135 con un valor de 3 min y el valor máximo observado es de 3.17 min en la figura figura 117. Las áreas bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 174.4 mAU.min en la figura 139 y máximo un valor de 192.6 mAU.min en la figura 117. De acuerdo con el factor de asimetría se obtuvieron valores por debajo de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 1.25 en la figura 121. Las figura 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150 y 152 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Intrafix Primeline en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en la figura 134 con un valor de 2.98 min y el valor máximo observado es de 3.14 min en la figura figura 118. En cuanto al área bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 176.7 mAU.min en la figura 126 y máximo un valor de 188.8 mAU.min en la figura 142. De acuerdo con el factor de asimetría se obtuvieron valores por debajo de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 1.23 en las figuras 124, 136 y 148.

Al realizar los últimos análisis se identifica un tiempo de retención promedio para la marca Flebotek de 3.0616 min, mientras que la marca Intrafix Primeline un tiempo de 3.0533 min, en cuanto al Área de las muestras tomadas de Flebotek es de 180.005 mAU.Min y la de las muestras tomadas de Intrafix Primeline es de 182.538 mAU.Min. Para el factor de Asimetría se obtuvo 1.204 para Flebotek y 1.207 para Intrafix Primeline. Comparando con el estándar se tiene un CV de 17.5953 para Flebotek y 18.033 para Intrafix Primeline estos resultados nos indican que la concentración del Metotrexato se pudo ver afectada en la preparación de las muestras, y como se menciona anteriormente se debe tener cuidado en la preparación de estas, evitando así un error analítico.

En el día 5, figura 153 se aprecia el cromatograma del estándar de metotrexato, en este se observa un tiempo de retención es de 2.37 min, un área de 253 mUA.min, y 1.37 de factor de asimetría. Las figura 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186 y 188 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Flebotek en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en las figuras 166 y 168 con un valor de 2.29 min y el valor máximo observado es de 2.73 min en la figura figura 174. En cuanto a las áreas bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 181.4 mAU.min en la figura 184 y máximo un valor de 216.9 mAU.min en la figura 154. Conforme al factor de asimetría se obtuvieron valores por debajo de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 1.36 en la figura 154. Las figura 155, figura 157, figura 159, figura 161, figura 163, figura 165, figura 167, figura 169, figura 171, figura 173, figura 175, figura 177, figura 179, figura 181, figura 183, figura 185, figura 187 y figura 189 pertenecen a los cromatogramas de las muestras de metotrexato tomadas de la bolsa de venoclisis de la marca Intrafix Primeline en las que se observa una variación en los tiempo de retención, sin embargo el valor mínimo de tiempo de retención es observado en la figura 167 con un valor de 2.3 min y el valor máximo observado es de 3.24 min en la figura figura 189. En cuanto a las áreas bajo la curva de estos cromatogramas existe una variación en los datos dando como mínimo de 177.6 mAU.min en la figura 189 y máximo un valor de 211.7 mAU.min en la figura 163. De acuerdo con el factor de asimetría se obtuvieron valores por debajo de 2.0, el valor máximo obtenido fue de 1.34 en las figuras 165 y 173.

En el último día se identifica tiempo promedio de retención para la marca Flebotek de 2.4911, mientras que la marca Intrafix Primeline un tiempo de 2.5255 min, en cuanto al Área de las muestras tomadas de Flebotek es de 200.011 mAU.Min y la de las muestras tomadas de Intrafix Primeline es de 199.994 mAU.Min. En el Factor de Asimetría se obtuvo 1.285 para Flebotek y 1.283 para Intrafix Primeline. Comparando con el estándar se tiene un CV de 16.598 para Flebotek y 16.607 para Intrafix Primeline estos resultados nos indican que la concentración del Metotrexato se pudo ver afectada en la etapa de preparación de muestras. Al medir la luz se observa que existe una variación mínima en los datos tomando en cuenta la posición de la bolsa, el tiempo en que se tomó la muestra y el día.

Para verificar que no hubiera presencia de productos de degradación, se realizó un barrido y se observaron dos señales una a 302 nm y otra a 259 nm, una vez obtenida esta información se leyeron las muestras a 259 nm y se esperaba que no hubiera ninguna señal sin embargo se obtuvo la presencia de un pico prácticamente al mismo tiempo de retención del Metotrexato a 302 nm, lo que indica que el Metotrexato puede ser leído a 259 nm.

Los datos se obtuvieron de acuerdo con la fórmula mencionada en la USP de la monografía Metotrexato, Inyección. El promedio del porcentaje de contenido fue de 77.71 % para la marca Flebotek y 78.81 % para la marca Intrafix Primeline lo cual nos indica que el medicamento es más estable en la marca Intrafix Primeline sin embargo se puede notar que el medicamento se degradó un 21.29 % lo cual se atribuye a que durante 6 horas se expuso a un total de 3038.8 Lux, mientras que el total de la luz absorbida en las muestras de la marca Flebotek fue de 2911.9 Lux debido a que la bolsa Intrafix Primeline está fabricado en PVC exento de DEHP, el cual es un polímero ideal para bolsas de infusión debido a su durabilidad y propiedades que lo convierten en protector de luz solar y reductor de radiación infrarroja.

8. Conclusiones

A pesar de que se utilizaron dos marcas diferentes de venoclisis y con los datos obtenidos se puede observar que el Metotrexato en solución inyectable presenta estabilidad bajo condiciones de iluminación artificial y natural por consiguiente se concluye que durante una infusión de aproximadamente 2 horas el medicamento mantiene sus propiedades físicas y químicas al igual que su eficacia y eficiencia durante una infusión, finalmente no se observó ninguna señal de interés diferente a la señal principal.

9. Referencias

1. Igualada J, Romero G, Tejada F. Metotrexato: toxicidad pulmonar, hepática y hematológica. Rev clín med fam [Internet]. 2016 [consultado el 8 de agosto de

- 2022];9(3):159–66. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2016000300005
2. Ortega R, Escudero A, Calvo J, Castro M del C, Collantes E. Óptima utilización del metotrexato. *Fondo Sem Es Reumatol* [Internet]. 2013 [consultado el 8 de agosto de 2022];14(1):24–7. Disponible en :<https://www.elsevier.es/es-revista-seminarios-fundacion-espanola-reumatologia-274-articulo-optima-utilizacion-del-metotrexato-S1577356613000055>
 3. Moya P. Estudios farmacogenéticos del metotrexato en la artritis reumatoide[tesis doctoral en internet]. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Medicina;2015[consultado el 9 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/384724/pma1de1.pdf?sequence=1>
 4. National Toxicology Program, Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health (NTP). National Toxicology Program Chemical Repository Database. Research Triangle Park, North Carolina;1992.
 5. O'Neil M, (et al).The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co.Inc. 2001;1071.
 6. Ficha técnica. Metotrexato.[Internet].2020.[consultado el 8 de agosto de 2022]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/57416/FT_57416.pdf
 7. Goicoechea C.Farmacología del metotrexato.*Reumatol Clin Supl.Farmacología*, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España;2016;11(1):3-7.
 8. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 126941, Methotrexate. [Internet]. 2004 [consultado el 28 de julio de 2022]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/126941>
 9. Nissen KB, Jorgensen LB, Berg DL, Andersen G. Stability study of methotrexate in 0.9% sodium chloride injection and 5% dextrose injection with limit tests for impurities. *Am J Health Syst Pharm* [Internet]. 2017 [consultado el 28 de julio de 2022]; 74(9):e211-e223. Disponible en: <https://doi.org/10.2146/ajhp150818>
 10. D'Hondt M, Vangheluwe E, Van Dorpe S, et. al. Stability of extemporaneously prepared cytarabine, methotrexate sodium, and methylprednisolone sodium succinate. *Am J Health Syst Pharm* [Internet]. 2012 [consultado el 28 de julio de 2022]; 69(3):232-40. Disponible en: <https://doi.org/10.2146/ajhp110208>
 11. Sabry SM, Abdel-Hady M, Elsayed M, Fahmy OT, Maher HM. Study of stability of methotrexate in acidic solution spectrofluorimetric determination of methotrexate in pharmaceutical preparations through acid-catalyzed degradation reaction. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2003 [consultado el 28 de julio de 2022]; 32(3):409-23. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00239-5](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00239-5)
 12. Vrignaud S, Briot T, Launay A, Kempf M, Lagarce F. Design and stability study of a paediatric oral solution of methotrexate 2 mg/ml. *Int J Pharm* [Internet]. 2015 [consultado el 28 de julio de 2022]; 487(1-2):270-3. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.04.016>
 13. Espinosa A, Nélieu S, Lieben P, et. al. Photodegradation of methotrexate in aqueous solution: degradation kinetics and identification of transformation products. *Environ Sci Pollut Res Int* [Internet]. 2022 [consultado el 11 de agosto de 2022]; 29(4):6060-6071. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15820-3>
 14. Hansen J. Kinetics of degradation of methotrexate in aqueous solution. *International Journal of Pharmaceutics* [Internet]. 1983 [consultado el 11 de agosto de 2022]; 16(2):141-152. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(83\)90051-0](https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90051-0)
 15. de Lemos ML, Monfared S, Denyssevyh T, et. al. Evaluation of osmolality and pH of various concentrations of methotrexate, cytarabine, and thiotepa prepared in normal

- saline, sterile water for injection, and lactated Ringer's solution for intrathecal administration. J Oncol Pharm Pract [Internet]. 2009 [consultado el 11 de agosto de 2022]; 15(1):45-52. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1078155208096902>
16. NORMA Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios [Internet]. Diario Oficial de la Federación; 26 de febrero de 2015 [consultado el 15 de agosto de 2022]. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5440183
 17. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1A (R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products [Internet]; febrero de 2003 [consultado el 15 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q1a-r2-stability-testing-new-drug-substances-drug-products>
 18. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1B: Photostability Testing of New Active Substances and Medicinal Products [Internet]; enero de 1998 [consultado el 15 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q1b-photostability-testing-new-active-substances-medicinal-products>
 19. In-use stability testing of human medicinal products, EMA. European Medicines Agency;2001.
 20. Goodman A, Gilman, A. Las bases farmacológicas de la terapéutica.La Habana:Científico Técnica[Internet].1994[consultado el 25 de agosto de 2022];285 - 287. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152013000100003
 21. Sánchez I, Nájera M, Espuny A, Titos J. Revisión de la estabilidad de los medicamentos fotosensibles.Farmacia Hospitalaria.Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria Madrid, España[Internet].2011[consultado el 25 de agosto de 2022];35(4):204-215. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3659/365961353008.pdf>
 22. Barrueco N, García B, Gil M^a E, López E, Ventura M^a G. Estabilidad de medicamentos en la práctica clínica. De la seguridad a la eficiencia.Farmacia Hospitalaria.Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria Madrid, España[Internet].2013[consultado el 25 de agosto de 2022];37(3):175-177.Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3659/365961322006.pdf>
 23. United States Pharmacopeial Convention, Inc. USP 42. Farmacopea de los Estados Unidos de América. NF 37. Rockville MD: United States Pharmacopeial Convention; 2019.
 24. López O. Propuesta de un método para el análisis de nimesulida por cromatografía de líquidos de alta resolución[Diplomado en cromatografía de líquidos de alta resolución]. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
 25. Vázquez R. Estudio de estabilidad de las soluciones de carboplatino utilizadas en los protocolos de desensibilización hospitalarios. Análisis de uso en la práctica clínica [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2019.

Anexo 1. Datos

Cuadro 9. Resultados obtenidos en el día 1

Marca	Tiempo de muestreo	Tiempo (min)	Altura (mAU)	Área (mAU.Min)	Asimetría
STD	-	3.31	803.1	179.7	2.13

Flebotek	0.5 h	3.29	953.1	223.2	2.22
Intrafix Primeline	0.5 h	3.46	868.5	212.6	2.21
Flebotek	1 h	3.49	882.9	219.6	2.2
Intrafix Primeline	1 h	3.35	841.4	194.3	2.2
Flebotek	1.5 h	3.39	927.7	222.8	2.2
Intrafix Primeline	1.5 h	3.38	875.6	204.1	2.22
Flebotek	2 h	3.37	940.2	223.2	2.27
Intrafix Primeline	2 h	3.25	905.2	204	2.25
Flebotek	2.5 h	3.27	965.9	223.3	2.19
Intrafix Primeline	2.5 h	3.26	901.2	202.3	2.15
Flebotek	3 h	3.25	984.1	223.2	2.24
Intrafix Primeline	3 h	3.27	901.4	202.9	
Flebotek	3.25 h	3.31	957.9	222	2.25
Intrafix Primeline	3.25 h	3.27	910.9	203.3	
Flebotek	3.5 h	3.25	983.2	222.1	2.18
Intrafix Primeline	3.5 h	3.24	911.5	203	2.21
Flebotek	3.75 h	3.25	968.6	222.6	2.2
Intrafix Primeline	3.75 h	3.25	903.7	202	2.17
Flebotek	4 h	3.27	974.3	221.7	2.25
Intrafix Primeline	4 h	3.29	905.2	203.1	2.19
Flebotek	4.25 h	3.26	984.8	220.8	2.28
Intrafix Primeline	4.25 h	3.26	925.4	203.2	2.22
Flebotek	4.5 h	3.23	1001.7	221.9	2.25
Intrafix Primeline	4.5 h	3.23	1021.8	222.9	2.23
Flebotek	4.75 h	3.25	926.6	204.9	2.23
Intrafix Primeline	4.75 h	3.28	904.7	202.3	2.25
Flebotek	5 h	3.21	1016.6	222.3	2.26
Intrafix Primeline	5 h	3.18	946.4	201.2	2.21
Flebotek	5.25 h	3.16	1037.7	222.1	2.26
Intrafix Primeline	5.25 h	3.17	939.3	197.1	2.21
Flebotek	5.5 h	3.16	1036.4	223.2	2.35
Intrafix Primeline	5.5 h	3.17	965.4	204	2.25
Flebotek	5.75 h	3.17	1032.7	223.1	2.33
Intrafix Primeline	5.75 h	3.19	958.5	203.2	2.26
Flebotek	6 h	3.19	1029.5	222.4	2.22
Intrafix Primeline	6 h	3.21	954.2	203.8	2.15

	Flebotek
--	-----------------

	Tiempo	Altura	Área
Promedio	3.265	977.9944444	221.3555556
Desviación	0.08466195757	43.18122512	5.915706909
CV	2.593015546	4.415283273	2.672490823
Intrafix Primeline			
	Tiempo	Altura	Área
Promedio	3.261666667	916.5764706	203.85
Desviación	0.07493134112	41.1219345	5.915706909
CV	2.297332891	4.486470667	2.901990144

Cuadro 10. Resultados obtenidos en el día 2

Marca	Tiempo de muestreo	Tiempo (min)	Altura (mAU)	Área (mAU.Min)	Asimetría
STD	-	3.27	828.6	210.3	2.45
Flebotek	0.5 h	3.26	1004.4	258.3	2.4
Intrafix Primeline	0.5 h	3.25	958.7	244.1	2.47
Flebotek	1 h	3.25	998.9	255.2	2.39
Intrafix Primeline	1 h	3.25	935	236.3	2.43
Flebotek	1.5 h	3.25	1011.3	255.9	2.39
Intrafix Primeline	1.5 h	3.06	1013.1	236.8	2.39
Flebotek	2 h	3.06	1092	257.1	2.41
Intrafix Primeline	2 h	3.06	984.9	229.4	2.43
Flebotek	2.5 h	3.05	1086.2	256.1	2.42
Intrafix Primeline	2.5 h	3.06	990.5	230.3	2.36
Flebotek	3 h	3.05	1092.2	256.2	2.45
Intrafix Primeline	3 h	3.05	1022.3	235.9	2.42
Flebotek	3.25 h	3.03	1099.8	255.3	2.44
Intrafix Primeline	3.25 h	3.05	1019	234.4	2.34
Flebotek	3.5 h	3.01	1082.9	243.8	2.37
Intrafix Primeline	3.5 h	2.99	1021.9	228.4	2.44
Flebotek	3.75 h	2.99	1121.8	254.3	2.36
Intrafix Primeline	3.75 h	2.99	1055.1	236.7	2.43
Flebotek	4 h	2.98	1128.1	254.3	2.46
Intrafix Primeline	4 h	3.29	905.2	203.1	2.38
Flebotek	4.25 h	2.99	1126	255.7	2.4
Intrafix Primeline	4.25 h	2.95	1061.7	236.9	2.46
Flebotek	4.5 h	2.95	1144.2	256	2.43
Intrafix Primeline	4.5 h	3.23	1002.8	222.9	2.49
Flebotek	4.75 h	2.95	1149.3	257.3	2.51

Intrafix Primeline	4.75 h	3.28	904.7	202.3	2.51
Flebotek	5 h	2.95	1135.7	256.3	2.56
Intrafix Primeline	5 h	2.95	1048.6	234.4	2.56
Flebotek	5.25 h	2.95	1139.3	256.4	2.47
Intrafix Primeline	5.25 h	2.93	1059.6	232.3	2.57
Flebotek	5.5 h	2.92	1157.4	256.4	2.55
Intrafix Primeline	5.5 h	2.93	1073.5	237.5	2.48
Flebotek	5.75 h	2.93	1141.6	255.9	2.48
Intrafix Primeline	5.75 h	2.94	1068.9	237.8	2.48
Flebotek	6 h	2.93	1149.8	256.5	2.54
Intrafix Primeline	6 h	2.93	804.3	176.6	2.47

Flebotek			
	Tiempo	Altura	Área
Promedio	3.027777778	1103.383333	255.3888889
Desviación	0.1124881984	71.44171627	3.048989975
CV	3.715206551	6.474786605	1.193861639
Intrafix Primeline			
	Tiempo	Altura	Área
Promedio	3.066111111	996.1	227.5611111
Desviación	0.1330695921	71.44171627	16.91146979
CV	4.340012063	7.172142985	7.431616812

Cuadro 11. Resultados obtenidos en el día 3

Marca	Tiempo de muestreo	Tiempo (min)	Altura (mAU)	Área (mAU.Min)	Asimetría
STD	-	3.33	833.3	213.4	2.62
Flebotek	0.5 h	3.35	1036.9	276	2.56
Intrafix Primeline	0.5 h	3.4	1068.5	287.8	2.52
Flebotek	1 h	3.36	1040.4	257.7	2.53
Intrafix Primeline	1 h	3.33	1064.3	283.9	2.59
Flebotek	1.5 h	3.36	1026.5	269.2	2.53
Intrafix Primeline	1.5 h	3.36	1047.6	278.5	2.54
Flebotek	2 h	3.37	1039.3	274.5	2.49
Intrafix Primeline	2 h	3.38	1048.8	280.1	2.48
Flebotek	2.5 h	3.37	1052.9	277.8	2.5
Intrafix Primeline	2.5 h	3.37	1059	281.1	2.57
Flebotek	3 h	3.39	1037.3	274.5	2.53
Intrafix Primeline	3 h	3.39	1048.6	279.6	2.52

Flebotek	3.25 h	3.41	1034.8	274.4	2.56
Intrafix Primeline	3.25 h	3.42	1052.1	280.3	2.52
Flebotek	3.5 h	3.37	1061.1	274.3	2.55
Intrafix Primeline	3.5 h	3.41	1055.1	282.1	2.44
Flebotek	3.75 h	3.43	1031.4	275.4	2.52
Intrafix Primeline	3.75 h	3.29	1091.9	278.8	2.54
Flebotek	4 h	3.35	1070.3	281.4	2.59
Intrafix Primeline	4 h	3.31	1082.2	283	2.5
Flebotek	4.25 h	3.37	1042.4	275.3	2.58
Intrafix Primeline	4.25 h	3.35	1057.9	281	2.53
Flebotek	4.5 h	3.32	1079.6	276	2.51
Intrafix Primeline	4.5 h	3.37	1031.6	273.9	2.64
Flebotek	4.75 h	3.34	1050.9	275	2.62
Intrafix Primeline	4.75 h	3.31	1086.6	280.2	2.65
Flebotek	5 h	3.33	1074.2	275.2	2.61
Intrafix Primeline	5 h	3.37	1064.7	282.3	2.64
Flebotek	5.25 h	3.39	1028.6	271.8	2.57
Intrafix Primeline	5.25 h	3.39	1047	277.6	2.6
Flebotek	5.5 h	3.37	1047.6	275.2	2.64
Intrafix Primeline	5.5 h	3.33	1073.9	281.9	2.73
Flebotek	5.75 h	3.39	1075.5	275.9	2.71
Intrafix Primeline	5.75 h	3.4	1063.8	281.7	2.57
Flebotek	6 h	3.42	1034.7	275.5	2.57
Intrafix Primeline	6 h	3.4	1068.5	287.8	2.62

Flebotek			
	Tiempo	Altura	Área
Promedio	3.371666667	1048.022222	274.1722222
Desviación	0.02955553098	17.16790972	4.755035171
CV	0.8765851997	1.638124589	1.73432419
Intrafix Primeline			
	Tiempo	Altura	Área
Promedio	3.365555556	1061.783333	281.2
Desviación	0.03807457423	15.39680066	3.301871127
CV	1.131301314	1.45008875	1.174207371

Cuadro 12. Resultados obtenidos en el día 4

Marca	Tiempo de muestreo	Tiempo (min)	Altura (mAU)	Área (mAU.Min)	Asimetría
-------	--------------------	--------------	--------------	----------------	-----------

STD	-	3.23	1156	231.1	1.24
Flebotek	0.5 h	3.17	1030.7	192.6	1.22
Intrafix Primeline	0.5 h	3.14	1014.9	182.5	1.21
Flebotek	1 h	3.15	1018.9	188.7	1.19
Intrafix Primeline	1 h	3.11	1018.3	181.2	1.22
Flebotek	1.5 h	3.11	1011.3	180.9	1.25
Intrafix Primeline	1.5 h	3.12	1025.7	182	1.18
Flebotek	2 h	3.08	1019.5	181.4	1.22
Intrafix Primeline	2 h	3.06	1033.3	182	1.23
Flebotek	2.5 h	3.07	1018.1	174.9	1.16
Intrafix Primeline	2.5 h	3.07	1027.9	176.7	1.21
Flebotek	3 h	3.05	1017.8	181.7	1.23
Intrafix Primeline	3 h	3.04	1045.9	184.2	1.22
Flebotek	3.25 h	3.04	1028.1	182.8	1.18
Intrafix Primeline	3.25 h	3.06	1041.3	177.7	1.2
Flebotek	3.5 h	3.04	1026.5	180.7	1.24
Intrafix Primeline	3.5 h	3.02	1043.7	183.8	1.17
Flebotek	3.75 h	3.03	1033.2	178.6	1.2
Intrafix Primeline	3.75 h	2.98	1051	187.6	1.22
Flebotek	4 h	3	1030.4	176.1	1.2
Intrafix Primeline	4 h	3	1054.2	186.4	1.23
Flebotek	4.25 h	3.03	1029	175.2	1.22
Intrafix Primeline	4.25 h	3.03	1051.8	178.5	1.21
Flebotek	4.5 h	3.03	1034.1	174.4	1.17
Intrafix Primeline	4.5 h	3.03	1040.4	181.6	1.21
Flebotek	4.75 h	3.03	1036.5	180.5	1.21
Intrafix Primeline	4.75 h	3.01	1053.3	188.8	1.22
Flebotek	5 h	3.05	1032.2	178.2	1.16
Intrafix Primeline	5 h	3.02	1044.8	185.3	1.2
Flebotek	5.25 h	3.04	1022.5	178.4	1.23
Intrafix Primeline	5.25 h	3.05	1030.3	178.9	1.2
Flebotek	5.5 h	3.06	1017	177.3	1.21
Intrafix Primeline	5.5 h	3.09	1024.1	182.8	1.23
Flebotek	5.75 h	3.07	1030.5	178.3	1.18
Intrafix Primeline	5.75 h	3.06	1034.8	184.8	1.19
Flebotek	6 h	3.06	1032.5	179.4	1.21
Intrafix Primeline	6 h	3.07	1031.3	180.9	1.18

Flebotek				
	Tiempo	Altura	Área	Asimetría
Promedio	3.061666667	1026.044444	180.0055556	1.204444444
Desviación	0.04328428597	7.337913008	3.342091436	
CV	1.413749133	0.71516522	1.85666016	
Intrafix Primeline				
	Tiempo	Altura	Área	Asimetría
Promedio	3.053333333	1037.188235	182.5388889	1.207222222
Desviación	0.04256482945	12.13265997	3.342091436	
CV	1.394044633	1.169764519	1.830892834	

Cuadro 13. Resultados obtenidos en el día 5

Marca	Tiempo de muestreo	Tiempo (min)	Altura (mAU)	Área (mAU.Min)	Asimetría
STD	-	2.37	1846.5	253	1.37
Flebotek	0.5 h	2.35	1600.5	216.9	1.36
Intrafix Primeline	0.5 h	2.38	1554.6	205.2	1.28
Flebotek	1 h	2.35	1587.5	207.7	1.32
Intrafix Primeline	1 h	2.35	1611.5	210.3	1.32
Flebotek	1.5 h	2.33	1570	204.7	1.3
Intrafix Primeline	1.5 h	2.33	1585.5	200.1	1.33
Flebotek	2 h	2.34	1568.2	205.4	1.33
Intrafix Primeline	2 h	2.34	1593.5	210.9	1.3
Flebotek	2.5 h	2.33	1546.2	196.7	1.32
Intrafix Primeline	2.5 h	2.33	1635.8	211.7	1.28
Flebotek	3 h	2.33	1601.6	203.1	1.3
Intrafix Primeline	3 h	2.32	1674.5	208	1.34
Flebotek	3.25 h	2.29	1594.7	190	1.33
Intrafix Primeline	3.25 h	2.3	1646.7	202.1	1.29
Flebotek	3.5 h	2.29	1612.5	211.5	1.27
Intrafix Primeline	3.5 h	2.31	1658.4	208.1	1.3
Flebotek	3.75 h	2.3	1624.6	203.3	1.31
Intrafix Primeline	3.75 h	2.33	1639.6	200.6	1.3
Flebotek	4 h	2.3	1606.1	203.6	1.3
Intrafix Primeline	4 h	2.33	1623.1	203.6	1.34
Flebotek	4.25 h	2.73	1285.9	199.7	1.29
Intrafix Primeline	4.25 h	2.69	1342.3	191.1	1.27
Flebotek	4.5 h	2.69	1336.3	201.1	1.22
Intrafix Primeline	4.5 h	2.64	1344.1	196.7	1.32

Flebotek	4.75 h	2.69	1303	189.6	1.24
Intrafix Primeline	4.75 h	2.71	1315.1	187.9	1.23
Flebotek	5 h	2.73	1301.7	199.3	1.26
Intrafix Primeline	5 h	2.75	1322.1	194.7	1.22
Flebotek	5.25 h	2.67	1322.2	197.1	1.31
Intrafix Primeline	5.25 h	2.67	1355.2	194.5	1.22
Flebotek	5.5 h	2.69	1284.9	181.4	1.24
Intrafix Primeline	5.5 h	2.71	1331	202.2	1.24
Flebotek	5.75 h	2.72	1305.3	202.4	1.23
Intrafix Primeline	5.75 h	2.73	1361.9	194.6	1.26
Flebotek	6 h	2.71	1324	186.7	1.21
Intrafix Primeline	6 h	3.24	1037.5	177.6	1.27

	Flebotek			
	Tiempo	Altura	Área	Asimetría
Promedio	2.4911111111	1465.288889	200.01111111	1.2855555556
Desviación	0.1969738379	146.3310666	8.966570085	
CV	7.907067533	9.986499433	4.483035985	
	Intrafix Primeline			
	Tiempo	Altura	Área	
Promedio	2.5255555556	1421.938889	199.9944444	1.283888889
Desviación	0.2556013031	146.7760677	8.966570085	
CV	10.12059713	10.32224864	4.483409582	