

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA DE CÁPSULAS DE GELATINA DURA DE  
RIZOMA DE ZARZAPARILLA (*SMILAX REGELII*)”**

**Daniel Humberto Medina Colón**

**Químico Farmacéutico**

**Guatemala, febrero de 2020**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA DE CÁPSULAS DE GELATINA DURA DE  
RIZOMA DE ZARZAPARILLA (*SMILAX REGELII*)”**

**Informe de Tesis**

**Presentado por**

**Daniel Humberto Medina Colón**

**Para optar al título de  
Químico Farmacéutico**

**Guatemala, febrero de 2020**

## **JUNTA DIRECTIVA**

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Giovanni Rafael Funes Tovar	Vocal IV
Br. Carol Merarí Caceros Castañeda	Vocal V

## DEDICATORIA

**A Dios**, por la vida, amor, bendiciones y sabiduría que me ha brindado. Por su fiel compañía durante esta etapa de mi vida.

**A mi madre**, por su amor incondicional. Por ser mi ejemplo de superación y trabajo constante. Gracias por los cuidados, orientación y sacrificios realizados a lo largo de mi vida.

**A mi padre**, por su ejemplo de valores, principios y servicio desinteresado. Gracias por los consejos y enseñanzas.

**A mi esposa**, por ser mi amiga, compañera de vida y aventuras. Por su amor, comprensión y apoyo. Gracias por permitirme formar un hogar junto a ti. Te amo.

**A mi hermano**, por su apoyo incondicionalmente en las buenas y las malas. Por aguantarme en mis peores momentos. Gracias por todas las aventuras y alegrías compartidas. Sigue adelante.

**A mis Abuelos**, por darme lecciones de vida.

**A mis amigos**, por los momentos inolvidables que hemos compartido. Por su cariño sincero: Ceci, Mike, Clau, Fita, Rous, Jacky y Canchita, nunca cambien.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios**, por darme la fortaleza y sabiduría para finalizar la carrera.

**A la Universidad de San Carlos de Guatemala**, por ser mi casa de estudios y formarme como profesional.

**A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**, por brindarme los conocimientos y experiencias necesarios, para afrontar la vida profesional.

**A mi asesor Lic. Julio Chinchilla**, por su apoyo y paciencia durante el desarrollo de la tesis.

**A mi revisora Licda. Julia García**, por su apoyo y corrección de la tesis.

**A Laboratorio San Cristóbal**, en especial a la Licda. Hilda de León, por permitirme realizar la fase experimental de la tesis.

**A mis padres, hermano, esposa y amigos**, por apoyarme en las distintas diligencias de la tesis.

## ÍNDICE

1.	RESUMEN .....	1
2.	INTRODUCCIÓN .....	2
3.	ANTECEDENTES .....	4
4.	JUSTIFICACIÓN .....	6
5.	OBJETIVOS .....	7
5.1	GENERAL .....	7
5.2	ESPECÍFICOS .....	7
6.	HIPÓTESIS .....	8
7.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	9
7.1	Universo .....	9
7.2	Muestra.....	9
7.4	Métodos.....	10
8.	RESULTADOS.....	16
9.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	22
10.	CONCLUSIONES .....	25
11.	RECOMENDACIONES.....	26
12.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
13.	ANEXOS .....	31
13.1	Marco Teórico.....	31
13.2	Datos fase experimental .....	46

## 1. RESUMEN

Se realizó un estudio de estabilidad acelerada de cápsulas de gelatina dura de zarzaparrilla (*Smilax regelii*), determinando la estabilidad de las mismas, por medio de la concentración de saponinas esteroidales presentes a lo largo del estudio. Con este fin se elaboraron y acondicionaron tres lotes piloto de cincuenta frascos cada uno, recolectando una muestra de quince frascos por lote, los cuales fueron sometidos a condiciones controladas de temperatura y humedad ( $40 \pm 2$  °C y  $75 \pm 5$  %, respectivamente), durante 180 días, siendo evaluadas la concentración de saponinas esteroidales, parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, al inicio del estudio, a los 45, 90, 135 y 180 días.

Posterior a la evaluación en cada uno de los tiempos, se recopilaron los resultados en tablas por cada lote. Encontrándose que las características fisicoquímicas y microbiológicas de las cápsulas se mantienen dentro de las especificaciones establecidas. Para los datos de concentración de saponinas esteroidales se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de  $\alpha = 0.05$ , obteniéndose un valor de probabilidad ( $p$ ) de 0.83 mayor que  $\alpha$ , determinándose que no existían diferencias significativas entre lotes. Por lo que se combinaron los resultados de los tres lotes y sometieron los mismos a regresión lineal por el método de mínimos cuadrados, determinado los límites de confianza superior e inferior y se determinó el porcentaje de degradación de las cápsulas de gelatina dura a los 180 días de estudio, siendo este del 8.91%.

Los resultados obtenidos, tanto de la concentración de saponinas esteroidales, análisis fisicoquímicos y microbiológicos de los tres lotes piloto en estudio, demostraron que las cápsulas de gelatina dura de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) son estables, en las condiciones extremas a las que fueron sometidas durante 180 días. Y que el tiempo en el cual la concentración inicial de saponinas esteroidales se reducirá al 90% en condiciones ambientales es de 15 meses y 19 días, siendo la vida útil del producto.

## 2. INTRODUCCIÓN

Uno de los requisitos establecidos para determinar la vida útil y poder realizar el registro sanitario de un producto de uso terapéutico, son los estudios de estabilidad. Tomando en cuenta que los productos a base de plantas medicinales (productos naturales medicinales o fitoterapéuticos), han tenido un aumento en su uso y son de gran contribución para los sistemas de salud de países en desarrollo, es importante que se realicen estudios de estabilidad para garantizar la calidad del producto por un tiempo determinado. (Bansal, Suthar, Kaur & Jain, 2016)

La Organización Mundial de la Salud a través de sus informes de Buenas Prácticas de Manufactura, sugiere que un producto fitoterapéutico debe presentar estudios de estabilidad. Guatemala posee una gran diversidad de plantas medicinales, en base a las cuales se fabrican diversos productos fitoterapéuticos de distintas formas farmacéuticas, para los cuales actualmente en el país, no son requeridos estudios de estabilidad para su registro, aunque se contemplan como un requisito en el futuro. (World Health Organization (WHO), 2006; Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO), 2011)

Debido a que los productos fitoterapéuticos se caracterizan por ser una mezcla heterogénea de componentes considerados en conjunto como principio activo, además de la presencia de componentes como enzimas que pueden alterar la composición de la mezcla, no es posible enmarcarlos dentro de las directrices para estudios de estabilidad establecidas por las regulaciones internacionales y nacionales para productos farmacéuticos, ya que estos designan una sola molécula como principio activo la cual no presenta interferencia por el resto de componentes, por ello la organización Mundial de la Salud sugiere definir la estrategia y metodología que se seguirá durante el estudio de estabilidad según la planta y forma farmacéutica establecida para el producto fitoterapéutico. (WHO, 2006)

Una de las estrategias aceptadas para determinar la vida útil de un producto fitoterapéutico, es la cuantificación con métodos específicos, de un compuesto marcador del cual se conozca la actividad terapéutica y análisis de las características fisicoquímicas y microbiológicas requeridas por la entidad reguladora. Todos estos análisis deben ser realizados antes, durante y posteriormente a ser sometido a condiciones de



almacenamiento extremo durante un tiempo establecido. (COMIECO, 2010; WHO, 2006; Bansal, 2016)

Una de las plantas medicinales utilizadas para la fabricación de productos fitoterapéuticos en Guatemala es la zarzaparrilla (*Smilax regelii*), de la cual se conoce que las saponinas esteroidales son responsables de la actividad atribuida a la planta. (Cáceres, 2009; Pahlow, 1996)

Por lo anterior se realizaron tres lotes pilotos de cápsulas de gelatina dura a partir del rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*). Los cuáles fueron sometidos a estabilidad acelerada, siendo almacenados en cámara de estabilidad en condiciones de  $40 \pm 2$  °C y  $75 \pm 5$  % de humedad relativa, por un periodo de 180 días, durante el cual se evaluó la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de las cápsulas de zarzaparrilla, bajo las condiciones descritas.

La estabilidad de las cápsulas se determinó por medio de la cuantificación de las saponinas esteroidales, utilizando el método espectrofotométrico basado en reacción colorimétrica. Y el análisis de las características fisicoquímicas y microbiológicas establecidas para cápsulas de gelatina dura, en los tiempos 0, 45, 90, 135 y 180 días.

Las concentraciones de saponinas esteroidales en cápsulas de gelatina dura elaboradas a partir de rizoma *Smilax regelii*, fueron evaluadas según la estrategia antes mencionada se determinó y respaldó el tiempo de vida útil que puede darse al producto. (WHO, 2006)

### 3. ANTECEDENTES

Estudio realizado por J.C. Baccou, F. Lambert y Y. Sauvaire (1977), en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de Ciencia y Tecnología de Languedoc, evaluó un método espectrofotométrico específico para determinación de saponinas esteroidales basado en una reacción colorimétrica con anisaldehído, ácido sulfúrico y acetato de etilo. Se determinó que el método descrito para la determinación de saponinas esteroidales es simple rápido, específico y sensitivo; además de ser más eficiente que otros métodos espectrofotométricos, teniendo la ventaja de poder desarrollarse en un laboratorio con equipamiento común.

G. Basal, N. Suthar, J. Kaur y A. Jain (2016), en el Departamento de Ciencias Farmacéuticas e Investigación de Drogas, de la Universidad de Punjabi de India, realizaron una revisión aspectos de los estudios de estabilidad de medicamentos a base de plantas, enfocándose en los desafíos, el cumplimiento de normativas y perspectivas que surgen en los últimos 10 años. Se recopilaron cuatro estudios de estabilidad acelerada realizados en cápsulas de plantas medicinales, un estudio de cápsulas mono herbales y tres estudios de cápsulas poli herbales, en los cuales se establecieron marcadores determinar la estabilidad. Se consensó según las organizaciones reguladoras consultadas que los estudios de estabilidad recomendados para medicamentos a base de plantas debían ser realizados a temperaturas de 40 °C y 75% de humedad relativa por un periodo de 6 meses.

C. Teleguario (2008), en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó la caracterización y cuantificación de flavonoides y sapogeninas esteroidales en extractos de tres plantas mesoamericanas *Lippia graveolens* (orégano), *Passiflora edulis* (Maracuyá) y *Smilax dominguensis* (zarzaparrilla). Determinando que *S. domingensis* presenta mayor porcentaje de sapogeninas esteroidales (1.63%), seguido por *L. graveolens* (1.36%) y *P. edulis* (0.7059%).

La Organización Mundial de la Salud (2006), en su informe No. 40, parte de la serie de Informes Técnicos del Comité de Expertos en Especificaciones para Preparaciones Farmacéuticas, en el anexo 3, indica que para la estabilidad de medicamentos herbales pueden utilizarse marcadores de actividad conocida, también que los ensayos y frecuencia

de los mismos deben ser definidos en base a las características de cada producto herbal, que se someterá a estabilidad.

S. Temaj (1995), en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó la cuantificación de saponinas esteroidales de hojas y rizomas de *Smilax Lundellii* (zarzaparrilla). Determinando que los rizomas poseen un mayor contenido de saponinas esteroidales (12.05%) en comparación con las hojas (9.82%).

De acuerdo a la revisión bibliográfica efectuada, no se encontró referencia sobre estudios de estabilidad acelerada para cápsulas de *Smilax regelii* (zarzaparrilla) o de saponinas esteroidales como parte de una forma farmacéutica sólida. La única referencia relacionada encontrada es un trabajo de tesis del año 2011 titulado: Evaluación de la estabilidad acelerada de una loción, con capacidad antifúngica, antibacteriana y antilevadura preparada a partir de extracto seco de rizoma de *Smilax dominguensis* (Zarzaparrilla), en solución etanólica al 70%, realizada por la Licda. Andrea Melgarejo. Concluyendo que la misma mantenía sus características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas e inhibitorias al variar las condiciones de almacenamiento a condiciones extremas durante 180 días.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el estudio de las plantas medicinales autóctonas de Guatemala, ha conducido a establecer los compuestos responsables de las actividades medicinales que se les atribuyen. Lo que ha contribuido a la utilización de estas plantas en la fabricación industrial de productos fitoterapéuticos en distintas formas farmacéuticas.

Una de estas plantas es la zarzaparrilla (*Smilax regelii*) que se comercializa en preparados líquidos y sólidos como las cápsulas de gelatina dura. A pesar que en la actualidad se conoce que uno de los metabolitos responsables de la actividad atribuida a esta planta, son las saponinas esteroidales. No se cuentan con estudios de estabilidad que garanticen que los productos mantienen su actividad, características fisicoquímicas y microbiológicas, a lo largo del tiempo en que permanecen en el mercado. Un obstáculo para el desarrollo de estos estudios es naturaleza heterogénea en la composición de este tipo de productos; además que no son un requisito para poder obtener el registro sanitario de productos fitoterapéuticos.

Como una estrategia para evitar este obstáculo la Organización Mundial de la Salud acepta la cuantificación de un compuesto marcador de actividad terapéutica conocida y análisis de características fisicoquímicas y microbiológicas requerías por una entidad reguladora, para el desarrollo de un estudio de estabilidad.

La finalidad de este trabajo fue realizar un estudio de estabilidad acelerada de cápsulas de gelatina dura a partir del rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) por medio de la cuantificación de saponinas esteroidales, utilizando un método espectrofotométrico basado en reacción colorimétrica. Y el análisis de las características fisicoquímicas y microbiológicas establecidas para productos naturales medicinales (cápsulas de gelatina dura).

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 GENERAL

Evaluar mediante un estudio de estabilidad acelerada, cápsulas de gelatina dura elaboradas a partir de rizoma de *Smilax regelii* (Zarzaparrilla).

### 5.2 ESPECÍFICOS

- 5.2.1 Establecer la estabilidad de saponinas esteroidales en cápsulas de gelatina dura elaboradas a partir de rizoma de *Smilax regelii*, por medio de método espectrofotométrico basado en reacción colorimétrica.
- 5.2.2 Cuantificar las saponinas esteroidales presentes en cápsulas de gelatina dura elaboradas a partir de rizoma de *Smilax regelii*, durante cada tiempo de análisis.
- 5.2.3 Determinar la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de cápsulas de gelatina dura elaboradas a partir de rizoma de *Smilax regelii*.

## 6. HIPÓTESIS

Las características fisicoquímicas, microbiológicas y concentración de saponinas esteroidales de cápsulas de gelatina dura elaboradas a partir de rizoma de *Smilax regelii* (zarzaparrilla), se mantienen, al ser sometidas a condiciones extremas de temperatura y humedad relativa durante 180 días.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Universo

Rizoma desecado de Zarzaparrilla (*Smilax regelii*)

### 7.2 Muestra

Muestras de tres lotes de cápsulas de gelatina dura fabricada a partir de rizoma de *Smilax regelii* en cumplimiento de las Buenas Prácticas de manufactura vigentes, según Norma Técnica 70-2011 “Buenas Prácticas de Manufactura de laboratorios de Productos Naturales Medicinales”

### 7.3 Materiales y Equipo

#### 7.3.1 Materia vegetal

- a) Rizoma de *Smilax regelii*

#### 7.3.2 Insumos

- a) Cápsulas de gelatina dura # 0
- b) Frasco pastillero de polietileno de baja densidad blanco.
- c) Liner de torque de 25 puntos

#### 7.3.3 Reactivos

- a) Alcohol 95°
- b) Estándar de diosgenina  $\geq 93\%$
- c) Acetato de etilo
- d) Ácido sulfúrico concentrado
- e) Anisaldehído

### **7.3.4 Cristalería y material de laboratorio**

- Balones volumétricos de 25, 50 y 100 mL
- Beakers de 50 y 100 mL
- Agitadores de vidrio
- Probetas de 50 mL
- Pipetas volumétricas de 1 y 2 mL
- Tubos de ensayo
- Espátula de acero inoxidable
- Embudo
- Papel filtro
- Baño de María

### **7.3.5 Equipo**

- a) Encapsuladora manual
- b) Cámara de estabilidad acelerada
- c) Estufa eléctrica
- d) Balanza semi-analítica
- e) Espectrofotómetro Varian Cary 50 Bio

## **7.4 Métodos**

### **7.4.1 Metodología**

El presente estudio de estabilidad acelerada se desarrolló de la siguiente manera.

#### **7.4.1.1 Preparación de lotes pilotos**

Se elaboraron tres lotes pilotos de 50 frascos por lote, cada frasco con 30 cápsulas de gelatina dura, conteniendo 0.375 g de rizoma de



*Smilax regelii*, cumpliendo con las directrices establecidas en las buenas prácticas de manufactura vigentes.

#### **7.4.1.2 Acondicionamiento de Lotes pilotos**

Se acondicionaron las cápsulas de gelatina dura de rizoma de *Smilax regelii* de cada uno de los lotes piloto, en frascos pastilleros blancos de polietileno de baja densidad y cierre con tapa blanca de polietileno de baja densidad y liner de torque de 25 puntos. Acondicionado treinta cápsulas por frasco. Los frascos con treinta cápsulas constituyeron las muestras a estudiar.

#### **7.4.1.3 Toma y tratamiento de las muestras**

Se realizó una recolección al azar de quince frascos por cada lote piloto, para un total de cuarenta y cinco frascos. Estos 45 frascos se separaron en cinco grupos de nueve muestras (tres frascos con 30 cápsulas, por cada lote) cada uno.

Se tomó un grupo de muestras para ser analizadas. Este grupo se considerará el tiempo 0 y no se sometió al almacenamiento en condiciones controladas.

El resto de grupos se almacenaron en cámara de estabilidad, con temperatura y humedad relativa controlada de  $40 \pm 2$  °C y  $75 \pm 5\%$  respectivamente, por un periodo de 45, 90, 135 y 180 días. En cada uno de estos intervalos de tiempo se retiraron nueve frascos (tres por lote), para ser analizados.

El análisis en cada uno de los intervalos de tiempo (0, 45, 90, 135 y 180 días) consistió, principalmente en determinar la concentración de saponinas esteroidales como compuesto marcador de la estabilidad de las cápsulas de *Smilax regelii* y los ensayos fisicoquímicos y

microbiológicos establecidos en el RTCA 11.03.56.09 Productos Farmacéuticos. Productos naturales medicinales para uso Humano. Verificación de calidad.

#### **7.4.1.4 Determinación de concentración de saponinas esteroidales**

##### **a. Preparación solución madre y curva de calibración**

- i. Pesar 0.001 g de diosgenina  $\geq 93\%$
- ii. Colocar la diosgenina en un balón aforado de 100 mL
- iii. Llevar a volumen con etanol 95°
- iv. Tomar alícuotas de 2, 4, 6, 8 mL y trasvasarlas a balones aforados de 10 mL
- v. Llevar a volumen los balones aforados de 10 mL con etanol 95°
- vi. La curva de calibración será de concentraciones de 2, 4, 6, 8 y 10  $\mu\text{g/mL}$

##### **b. Preparación de los reactivos**

- i. Reactivo A: 0.5 mL de anisaldehído + 99.5 mL de acetato de etilo
- ii. Reactivo B: Ácido sulfúrico al 50% en acetato de etilo
- iii. Acetato de etilo
- iv. Blanco: 2 mL de acetato de etilo + 1 mL de Reactivo A + 1 mL de reactivo B

##### **c. Preparación de las muestras**

- i. Tomar 20 cápsulas de gelatina dura y vaciar su contenido (rizoma de *Smilax regelii*) en un beacker y mezclar
- ii. De la mezcla anterior pesar 0.375 g
- iii. Colocar los 0.375 g en un beacker de 100 mL y agregar 75 mL de etanol 95°

- iv. Agitar y calentar en baño de María a 60° C por 20 minutos
- v. Transferir una alícuota de 4 mL a un beacker de 5 mL y evaporar a sequedad lentamente en baño de María
- vi. Enfriar a temperatura ambiente
- vii. Añadir 1 mL de acetato de etilo, 1 mL de Reactivo A y 1 mL de Reactivo B
- viii. Agitar y calentar a 60°C por 20 minutos
- ix. Dejar enfriar durante 10 minutos
- x. Leer en el espectrofotómetro a 430 nm, utilizando la curva de calibración de diosgenina y el blanco. Tanto la curva y blanco se prepararán de acuerdo al procedimiento expuesto en los incisos iv al x.

#### **7.4.1.5 Control de Calidad Físicoquímico de las muestras**

##### **a. Características organolépticas**

- Se toman 20 cápsulas y se realiza un análisis visual de las características físicas de las cápsulas: color, olor, consistencia.

##### **b. Variación de peso**

- Tomar 20 cápsulas
- Pesar individualmente cada cápsula
- El peso individual de las cápsulas debe encontrarse entre el 90 y 110 % del peso especificado (0.375 g).

#### **7.4.1.6 Control de Calidad Microbiológico de las muestras**

Se determinó la ausencia de microorganismos en las cápsulas de gelatina dura sometidas a estabilidad en un laboratorio de control de calidad externo. Los análisis se realizaron en base a los límites establecidos en el RTCA 11.03.56.09 Productos Farmacéuticos.

Productos naturales medicinales para uso Humano. Verificación de calidad, los cuales son:

PRODUCTO NATURAL	RECuento TOTAL DE AEROBIOS VIABLES	RECuento TOTAL DE HONGOS Y LEVADURAS	RECuento TOTAL DE ENTERO BACTERIAS	PATÓGENOS
Preparaciones de Administración oral	$\leq 10^4$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	Ausencia de: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Salmonella sp*</i></li> </ul>

\* Donde  $< 3\text{NPM/g}$  o  $< 10\text{ UFC/g}$  equivale a ausente (COMIECO, 2009)

#### 7.4.1.7 Diseño de la investigación

Esta investigación es del tipo cuantitativo con alcance inicial exploratorio, pues se determinó la concentración de saponinas esteroidales en cápsulas de gelatina dura de *Smilax regelii*, dependiendo del intervalo de tiempo al que fueron sometidas a almacenamiento controlado.

Se trabajó con tres lotes pilotos, los cuales se analizaron por triplicado (tres muestras) por intervalo de tiempo, en las cuales se determinó la concentración de saponinas esteroidales.

##### a) Análisis estadístico

Se determinó la concentración de saponinas esteroidales para cada una de las muestras por cada lote e intervalo de tiempo analizado, por medio de la ecuación de la curva de calibración del estándar de diosgenina.

##### b) Estadística descriptiva

La evaluación de resultados se llevó a cabo inicialmente por medio de estadística descriptiva, la cual incluye: Media y desviación estándar de las concentraciones de saponinas esteroidales, por lote e intervalo de tiempo.

**c) Análisis de varianza (ANOVA)**

Con los resultados de las medias de concentración de saponinas esteroidales por lote e intervalo de tiempo. Se realizó análisis de varianza a un nivel  $\alpha = 0.05$ , para confirmar que no existen diferencias significativas entre lotes

**d) Regresión lineal de mínimos cuadrados**

Si el ANOVA confirmaba que no existe diferencias significativas entre lotes; se combinaban los resultados de los tres lotes y se sometían a regresión lineal por el método de mínimos cuadrados, para determinar los límites de confianza superior e inferior y porcentaje de degradación de las cápsulas de gelatina dura a partir de rizoma de *Smilax regelii* a los 180 días.

Si el ANOVA confirmaba que existen diferencias significativas entre lotes. Entonces los datos de todos los lotes no sustentan la estabilidad de las cápsulas de gelatina dura de rizoma de *Smilax regelii* en condiciones aceleradas.



Color	Rojo-café	Rojo-café	Rojo-café	Café	Café	Café
Consistencia	Polvo	Polvo	Polvo	Polvo	Polvo	Polvo
Olor	Dulce característico	Dulce característico	Dulce característico	Dulce característico	Dulce característico	Dulce característico
Variación de peso	0.338 – 0.412 g	0.373 g	0.373 g	0.368 g	0.376 g	0.371 g
3 Concentración de Saponinas	90 -110 %*	99.7 %	97.1%	96.7 %	93.6 %	90.5 %
Conteo total	<10 <sup>4</sup> UFC	2600 UFC	3100 UFC	5200 UFC	5700 UFC	6200 UFC
Hongos y levaduras	<10 <sup>2</sup> UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Recuento total Enterobacterias	<10 <sup>2</sup> UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC	<10 UFC
Patógenos	Ausente**	Ausente**	Ausente**	Ausente**	Ausente**	Ausente**

\*100% = 19.0 ppm (ver tabla F en anexos) \*\* Donde < 3NPM/g ó < 10 UFC/g equivale a ausente (COMIECO, 2009)

(Fuente Propia, 2019)

Nota: Los resultados que observan en la tabla No. 1 que la coloración del contenido sufrió una variación a partir del día 90 para los lotes 1 y 3, mientras que el lote 2 presenta esta variación al día 135. Tanto la consistencia, olor y variación de peso se mantuvieron dentro de las especificaciones. En cuanto a las características microbiológicas se observa que el conteo total aumenta con el transcurso del tiempo sin salirse de especificaciones, sin embargo, el conteo de hongos y levaduras, enterobacterias y patógenos se mantienen constantes durante el estudio.

**Tabla No. 2**  
*Concentración de Saponinas esteroideas*

Tiempo (días)	Concentración de Saponinas esteroideas					
	L1		L2		L3	
	[ppm]	% [ ]*	[ppm]	% [ ]*	[ppm]	% [ ]*
0	37.4	101.1	36.8	99.4	36.9	99.7
45	36.4	98.4	36.1	97.6	35.9	97.1
90	35.8	96.8	35.3	95.4	35.8	96.7
135	34.6	93.5	34.8	94.1	34.6	93.6
180	33.7	91.2	33.6	90.9	33.5	90.5

\* [ ] = Concentración

(Fuente Propia, 2019)

Nota: Utilizando espectrofotometría UV-Vis, se determinó la concentración de saponinas esteroideas presentes en las muestras de cápsulas de gelatina dura de zarzaparrilla (*Smilax regelii*), en cada uno de los tiempos de estudio, por el método desarrollado por Baccou & Lambert. Utilizando para este fin una curva de calibración (ver inciso 13.2, Tabla E y Gráfica A en anexos), para obtener la concentración de saponinas esteroideas presente en las muestras (ver inciso 13.2, Tablas F y G en anexos).

### Tablas No. 3 - 4

#### Análisis de varianza (ANOVA)

##### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
L1	15	533.8	35.58666667	2.50409524
L2	15	529.8	35.32000000	1.59028571
L3	15	530.2	35.34666667	1.67695238

##### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad (p)	Valor crítico para F
Entre grupos	0.64711111	2	0.32355556	0.16818759	0.84576168	3.219942293
Dentro de los grupos	80.79866667	42	1.92377778			
Total	81.4457778	44				

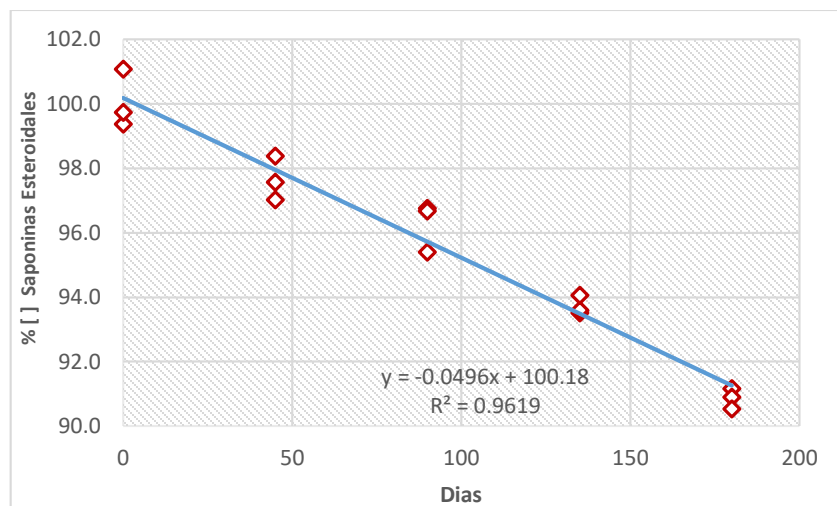
(Fuente Propia, 2019)

Nota: Con los resultados de concentración de cada lote en cada uno del tiempo se realizó una prueba de hipótesis con un nivel de  $\alpha = 0.05$ , en donde la hipótesis nula, indicaba que todas las medias son iguales y la hipótesis alternativa indica que no todas las medias son iguales. El ANOVA evidenció que no existe evidencia significativa que indique diferencia dentro, ni entre cada uno de los tres lotes y pueden ser combinados (probabilidad (p) >  $\alpha$  (0.05))



**Gráfica No. 1**

*Análisis de regresión lineal relación entre [saponinas esteroidales] y paso del tiempo*



(Fuente Propia, 2019)

**Tabla No. 5**

*Análisis de Regresión Lineal relación entre [saponinas esteroidales] y paso del tiempo*

## Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
<b>Coefficiente de correlación múltiple</b>	0.980784804
<b>Coefficiente de determinación R<sup>2</sup></b>	0.961938832
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	0.95901105
<b>Error típico</b>	0.674218804
<b>Observaciones</b>	15

## ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
<b>Regresión</b>	1	149.3517842	149.3517842	328.555464	1.30932E-10
<b>Residuos</b>	13	5.909422936	0.454570995		
<b>Total</b>	14	155.2612072			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad (ρ)</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
<b>Intercepción</b>	100.1801802	0.301519815	332.2507348	6.27898E-27	99.52878622	100.8315741
<b>Tiempo (m)</b>	-0.049582916	0.002735443	-18.12609897	1.30932E-10	-0.055492482	-0.04367335

(Fuente Propia, 2019)

<b>Ecuación de la recta:</b>	y= -0.0496 x + 100.19
<b>Resultado del análisis de regresión:</b>	La regresión lineal es significativa (p <0.05)
<b>Día en el que se estima que la concentración decaiga al 90%:</b>	206 días
<b>Intervalo de confianza al 95% de la pendiente (m):</b>	(-0.055492482, -0.04367335)
<b>Intervalo en el que se estima la concentración decaiga al 90%:</b>	184 a 234 días

(Fuente Propia, 2019)

Nota: Al determinarse la igualdad entre los lotes en estudio (ver Tablas 3 - 4), se realizó regresión lineal de mínimos cuadrados (Gráfica 1 y Tabla 5), utilizando para ello el porcentaje de concentración en cada tiempo (ver Tabla 2). Evidenciando que existe una relación entre la concentración de saponinas esteroidales y el paso del tiempo, ya que se obtuvo un valor de probabilidad (p) <0.05. Se estableció el intervalo de confianza al 95% para la pendiente, se calculó el día en el cual se espera que la concentración alcance el 90% de la concentración inicial y el intervalo de confianza para esta estimación a 40 ± 2°C.

### Tabla No. 6

*Cálculo del porcentaje de degradación*

<b>Concentraciones ajustadas con ecuación de regresión lineal</b>	
<b>TIEMPO (días)</b>	<b>[ ] (% Saponinas esteroidales)</b>
0	100.19
45	97.96
90	95.76
135	93.49
180	91.26

(Fuente Propia, 2019)

<b>[ ]<sub>o</sub></b>	<b>[ ]<sub>f</sub></b>
100.19%	91.26%

<b>Cálculo</b>
----------------

$$\text{Porcentaje de degradación} = 100\% - \frac{[ ]_f * 100}{[ ]_o}$$

$$\% \text{degradación} = 100\% - \frac{91.26\% * 100\%}{100.19\%}$$

$$\% \text{degradación} = 8.91\%$$

(Fuente Propia, 2019)

Nota: Con la ecuación determinada en la regresión lineal se procedió a determinar las concentraciones ajustadas en cada uno de los tiempos. Con las cuales se realizó el cálculo del porcentaje de degradación a los 180 días de estudio.

**Tabla No. 7**

*Estimación de vida útil*

Datos			
°T <sub>1</sub>	25 °C	k <sub>1</sub>	0.0204
°T <sub>2</sub>	40 °C	k <sub>2</sub>	0.0502

$$t_{10\%} = \frac{0.1C_0}{k_0}$$

$$t_{10\%} = \frac{0.1 * 100.19}{0.0214}$$

$$t_{10\%} = 468.17 \approx 469$$

(Fuente Propia, 2019)

Nota: Para la estimación de la vida útil a 25 °C se determinó el orden de reacción (ver inciso 13.2, Tabla H en anexos) para la degradación de saponinas esteroidales de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) en cápsulas de gelatina dura. A partir de los datos obtenidos en la determinación del orden de reacción a 40°C, se determinó la constante de velocidad (k) para una temperatura de 25° (ver anexo tabla I). Conociendo el valor de k a 25°C, utilizando la ecuación de vida media para reacciones de orden 0, se estimó el tiempo en que la concentración de saponinas esteroidales alcanza el 90% de la concentración inicial a 25°C, siendo este de 469 días (equivalente a 1 año y 3 meses).

## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio, se evaluó la estabilidad de cápsulas de gelatina dura de rizoma de Zarzaparrilla (*Smilax regelii*), tomado a las saponinas esteroidales como metabolito marcador de estabilidad, cuantificando éstas en cada tiempo de estudio por medio de un método desarrollado por J.C. Baccou, F. Lambert y Y. Sauvaire (1977). Para lo cual utilizando diosgenina como estándar, se construyó una curva de calibración (ver inciso 13.2, Tabla E y Gráfica A en Anexos) y así determinar la cantidad de saponinas esteroidales presentes en cada muestra de cápsulas de gelatina dura

En el estudio de estabilidad también fueron evaluadas las características fisicoquímicas y microbiológicas de las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*), se puede observar los resultados obtenidos versus las especificaciones de calidad de cada característica en la Tabla No. 1, presentando los resultados de los tiempos 0 a 180 días. Una de las características evaluadas fue el conteo total de microorganismos el cual se observa que cronológicamente va en aumento respecto al tiempo inicial (día 0), sin embargo, durante el tiempo de estudio ninguna característica evaluada salió de las especificaciones establecidas. Evidenciando que las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) mantienen sus características fisicoquímicas y microbiológicas.

La cuantificación de saponinas esteroidales se llevó a cabo en las muestras iniciales de los tres lotes pilotos, por triplicado (ver inciso 13.2, Tabla No. F en anexos), con las cuales se estableció la concentración inicial de 37.0 ppm, la cual representó el 100% para el presente estudio. Posteriormente de la misma manera se realizó la cuantificación por triplicado a los 45, 90, 135 y 180 días de ser expuestas las muestras a condiciones ambientales controladas (ver Tabla 2 en resultados).

Obtenidas las concentraciones de saponinas esteroidales de los tres lotes en cada uno de los tiempos de estudio, se realizó un análisis de ANOVA con un nivel de  $\alpha$  igual a 0.05, con el fin de determinar si existía diferencia significativa entre las muestras por lote y entre los lotes estudiados, que pudieran no sustentar la estabilidad de las cápsulas de gelatina dura. Como se observa en las Tablas No. 3-4, el análisis evidenció que el valor  $p$  (probabilidad)

0.83 es mayor a  $\alpha$  (0.05), lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre cada una de las muestras por lote, ni entre los tres lotes evaluados.

Por lo que se combinaron los datos de todos los lotes por tiempo de evaluación y se realizó un análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados, con el cual se determinó inicialmente que existe una relación significativa entre la concentración de saponinas esteroidales y el tiempo, debido a que el valor  $p$  (probabilidad) para la pendiente es menor al nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0.05, disminuyendo la concentración a medida que avanza el tiempo (ver Tabla No. 5 y Gráfica No.1 en resultados).

Se determinó el tiempo en el cual las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) alcanzan la concentración del 90% (límite inferior de la especificación establecida) a la temperatura de estudio  $40 \pm 2$  °C, es de 206 días, con un intervalo de confianza del 95% la concentración de saponinas esteroidales disminuirá entre los días 184 a 234. También se determinó que el porcentaje de degradación de saponinas esteroidales obtenido durante el periodo de estudio a  $40 \pm 2$  °C fue de 8.91% (ver Tabla No. 6 en resultados). A lo largo del estudio la concentración de saponinas esteroidales en cada uno de los lotes se mantiene dentro de las especificaciones, confirmando la hipótesis establecida al inicio del estudio.

Puesto que la finalidad de los estudios de estabilidad acelerada es estimar el tiempo de vida útil de un medicamento a temperatura ambiente (25°C), se realizó la estimación de ésta. Por lo que era necesario conocer la constante de velocidad a dicha temperatura. Para poder determinar la constante de velocidad ( $k$ ) a 25°C, se debe determinar el orden de la reacción, para la degradación de saponinas esteroidales, encontrándose que esta reacción es de orden cero (ver inciso 13.2, Tabla H y Gráficas B - C en anexos), que indica que la misma no depende de la concentración de saponinas esteroidales inicial.

Conociendo el orden de reacción, utilizando de Arrhenius linealizada se procedió a encontrar el valor de la constante de reacción a 25°C, como se observa en la tabla I en anexos. Es importante remarcar que debido al diseño del estudio que consideraba únicamente una temperatura ( $40 \pm 2$ °C), no era posible utilizar la ecuación de Arrhenius para determinar la velocidad de reacción, debido a que la misma requiere por lo menos de

dos valores de temperatura experimentales para determinar la energía de activación, necesaria para despejar los valores  $k$  de las constantes de velocidad. Por lo anterior se utilizó la energía de activación de la diosgenina determinada por Fei-xiong *et al.* en 2013 como referencia para la determinación del valor  $k$  a 25°C. Una vez determinada la constante de velocidad a 25°C, utilizando la ecuación de vida útil para reacciones de orden cero, se estimó el tiempo de vida útil para las cápsulas de gelatina dura de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) en condiciones de almacenamiento de 25 °C, siendo esta de 469 días equivalentes a 1 año y 3 meses.

## 10. CONCLUSIONES

- Las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) mantienen sus características fisicoquímicas al finalizar los 180 días almacenamiento a temperatura de  $40 \pm 2$  °C y humedad relativa de  $75 \pm 5$  %HR.
- Las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) mantienen sus características microbiológicas al finalizar los 180 días almacenamiento a temperatura de  $40 \pm 2$  °C y humedad relativa de  $75 \pm 5$  %HR.
- La concentración de saponinas esteroidales en las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*), se mantiene dentro de las especificaciones establecidas al finalizar los 180 días almacenamiento a temperatura de  $40 \pm 2$  °C y humedad relativa de  $75 \pm 5$  %HR.
- El tiempo estimado en el cual las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) alcanzan una concentración de saponinas esteroidales del 90% a 40°C es de 206 días (7 meses).
- El tiempo estimado en el cual las cápsulas de gelatina dura de rizoma de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) alcanzan una concentración de saponinas esteroidales del 90% a 25°C es de 469 días (1 año y 3 meses).

## 11. RECOMENDACIONES

- Ampliar el estudio de estabilidad acelerada utilizando por lo menos dos nuevas temperaturas de almacenamiento, con el fin de obtener una estimación de la vida útil, más ajustada a la reacción de degradación estudiada (Estudios de estrés, OMS).
- Realizar el estudio de estabilidad acelerada en donde se incluya un nuevo metabolito secundario (alcaloides) o se verifique la actividad terapéutica, como parámetro marcador de la estabilidad.
- Realizar un estudio de estabilidad a largo plazo, para determinar si existen cambios en la concentración de saponinas esteroidales, en condiciones normales de almacenamiento.



## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Applequist, W. (2005). The identity and typification of *Smilax grandifolia* Regel, *nom, illeg.* and *S. regelii* Killip & C.V. Morton (Smilacaceae). *Taxon* 54(1). Pp- 144-146
- Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI). (2001). Validación de métodos analíticos. Pp. 56-67
- Baccou, J. C., Lambert, F. & Sauvaire, Y. (1977). Spectrophotometric Method for the Determination of Total Steroidal Sapogenin. *Analyst*, 102(1215), 458-465
- Bansal, G., N. Suthar, J. Kaur & A. Jain. (2016). Review; Stability Testing Of Herbal Drugs: Callenges, Regulatory Compliance and Perspectives. *Phytotherapy Research*, 30(7), 1046 - 1058.
- Bhatt B. & Aggrawal S.S (s.f.) *Pharmaceutical Technology: Capsules*. Nueva Delhi: Institute of pharmaceutical Science and Research. Pp 2, 5. 7-8.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de uso Medicinal de Guatemala*: Editorial Universitaria, 373-377
- Cáceres, A. (2009). *Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*, Guatemala: Editorial Universitaria, 247-248
- Conferencia Internacional Sobre Armonización de los Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH). (2002). Diseños de análisis de extremos y de matriz para pruebas de estabilidad de nuevos fármacos y medicamentos Q1D.
- Conferencia Internacional Sobre Armonización de los Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH). (2003). Evaluación de Datos de Estabilidad Q1E.

Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO). (2010). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.04:10: PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD PARA USO HUMANO, Primera Actualización, Centro América.

Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO). (2011). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.64:11: PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. PRODUCTOS NATURALES MEDICINALES PARA USO HUMANO. REGISTRO SANITARIO, Centro América.

Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO). (2009). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.56.09 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. PRODUCTOS NATURALES MEDICINALES PARA USO HUMANO. VERIFICACIÓN DE CALIDAD, Centro América.

Cordoba, D., Cordoba, M. & Lozano, M. (2012). Manual de tecnología farmacéutica. España: Elsevier España- Pp. 235-245

Dirección general de regulación, vigilancia y control de la salud (DGRVCS). (2011) Norma Técnica 70-2011 “Buenas Prácticas de Manufactura de laboratorios de Productos Naturales Medicinales”. Guatemala

Fei\_xion, C., Li, F., Lu, F., Chou\_chuo, L. & Bao\_zeng, R. (2013) Non-Isothermal Decomposition Kinetics of Diosgenin. Russian Journal Of Physical Chemistry, 87(10), 1611-1614

Fischer, B. & Hartwich C. (2013) Hagers Handbuch der Pharmaceutischen Praxis: Für Apotheker, Ärzte, Drogisten und Medicinalbeamte.(6ta. Ed.) Berlin: Springer-Verlag, 847-848

Gennaro, A. (2003) *Remington Farmacia, Volumen 1*. (20ª. Ed.) Argentina: Editorial Médica Panamericana. Pp. 1027-1028, 1144

- Güçlü-Üstündağ, O. & Mazza, G. (2007). Saponins: Properties, Applications and Processing. *Food Science and Nutrition*, 47(3), 238, 241. DOI: 10.1080/10408390600698197
- Levine, I. (2014). *Principios de Fisicoquímica*. (6ª. Ed.) Mexico: McGraw-Hill/Interamericana editores S.A. Pp. -479494
- Logan, S. (2000). *Fundamentos de Cinética Química*. Madrid: ADDISON WESLEY IBEROAMERICANA. Pp. 1-20
- Martinez, A. (2001). *Saponinas Esteroidales*. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia, pp. 15
- Martins, A., Soares, M., Redher, V., Bajay, M., Villela, P., Zucchi, M. & Appezzato, B. (2014). Use of Anatomical, Chemical, and Molecular Genetic Characteristics in the Quality Control of Medicinal Species: A Case Study of Sarsaparilla (*Smilax* spp). *Economic Botany*, XX(X)
- Melgarejo, A. (2011). *Evaluación de la estabilidad acelerada de una loción, con capacidad antifúngica, antibacteriana y antilevadura preparada a partir de extracto seco de rizoma de Smilax domingensis (Zarzaparrilla), en solución etanólica al 70%. (Tesis de pregrado)*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala
- Mukherjee, p. (2002). *Quality Control of Herbal Drugs*, India: Business Horizon's, pp. 336
- Morton, C. (1962). A Reexamination of Mexican Smilax (Smilacaceae). *Brittonia*, 14(3), 299-310.
- Pahlow, M. (1996) *El Gran libro de las PLANTAS MEDICINALES; Salud a través de las fuerzas curativas de la naturaleza*, (9na. Ed), España: Editorial Everest, 407-408.
- Rafatulla, S., Mossa, J., Ageel, A. & Al-Yahya, M. (1991). Hepatoprotective and Safety Evaluation Studies on Sarsaparilla. *Int. J. Pharmacognosy*, 29(4).

- Stegeman, S. (2002). *Hard gelatine Capsules Today And Tomorrow* (2ed.). Bornem, Belgica: Capsugel Library. Pp. 1
- Teleguario, C. (2008). *Caracterización y cuantificación de flavonoides, saponinas esteroidales en extractos de tres plantas mesoamericanas *Lippia graveolens* (orégano), *Passiflora edulis* (maracuyá) y *Smilax dominguensis* (zarzaparrilla)*. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala
- Temaj, S. (1995). *Cuantificación de saponinas esteroidales en hojas y rizomas de *Smilax lundellii* (zarzaparrilla)*. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala
- The United States Pharmacopeia Convention (USP). (2007). *Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional, Volumen 1 (30a. ed.)*. Estados Unidos de America: The United States Pharmacopeial Convention. Pp. 682
- The United States Pharmacopeia Convention (USP). (2009). *Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional, Volumen 1 (32a. ed.)*. Estados Unidos de America: The United States Pharmacopeial Convention. Pp. 727-728
- The United States Pharmacopeia Convention (USP). (2017). *Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional, Volumen 1 (40a. ed.)*. Estados Unidos de America: The United States Pharmacopeial Convention. Pp. 1547-1548
- World Health Organization (WHO). (2006). *WHO Technical Report Series, No. 937 (Fortieth Report): Annex 3 Supplementary guidelines on good manufacturing practices for the manufacture of herbal medicines*, Geneva: World Health Organization, 85-106.

## 13. ANEXOS

### 13.1 Marco Teórico

#### 13.1.1 Descripción de la planta a utilizar

- **Nombre Científico:** *Smilax regelii* Killip et Morton
- **Familia:** Smilacaceae
- **Nombres Comunes:** Bejuco de la vida, Cocolmecha, China root, Diente de Chucho, Palo de la vida. (Cáceres, 2009; Pahlow, 1996)
- **Sinónimos:** *Smilax grandifolia* Regel y *Smilax ornata* Hoot. (Applequist, 2005)

- **Habitat y distribución**

Planta que crece en las selvas perennifolias nativa de México y los países centroamericanos de Guatemala, Honduras; el Salvador y Nicaragua. (Cáceres, 2009; Fischer & Hartwich, 2003; Morton, 1962; Pahlow, 1996)

- **Descripción botánica**

Arbusto trepador con un rizoma vigoroso del que parten numerosas raíces de varios metros de largo. Los tallos son tetrágonos y provistos de espinas. Las hojas miden hasta 35 cm de largo, tienen forma acorazonada y tienen un pedúnculo



*Smilax regelii*  
 (A) Hábito del tallo floral y hojas adheridas;  
 (B) Hoja de forma diferente; (C) Estambre;  
 (D) Flor estaminada; (E) Pistilo floral;  
 (F) Porción del tallo mostrando espinas

*Imagen 1 Smilax regelii* (Cáceres, 1996)

de 3 a 7 cm que se ensancha en su parte inferior en forma de vaina. Brotan aquí a ambos lados zarcillos. Las flores, dispuestas en umbelas, son blancas y el fruto que se desarrolla de ellas en una baya roja esférica. (Cáceres, 2009; Pahlow, 1996)

- **Recolección**

Se desentierran las raíces y se liberan del rizoma nudoso. Se las corta en trozos de 50 a 75 cm de largo, y se les deja secar al aire. Una vez secas se les puede doblar. (Pahlow, 1996)

- **Denominación farmacológica**

Raíz = *Sarsaparillae radix*. (Pahlow, 1996)

- **Composición química**

Contienen alcaloides, aceite esencial, esteroides insaturados, glicósidos esferoidales (saponinas, cardenólidos, bufadienólicos), flavonoides, leucoantocianinas, taninos, polifenoles, resinas, azúcares y grasas; además agliconas esferoidales (parrillina, sarsapogenina, smilagenina). (Cáceres, 2009; Mukherjee, 2002)

La actividad antimicrobiana y diurética se atribuye a las saponinas. La sarsapogenina y los flavonoides son antiinflamatorios y las antocianinas son antioxidantes. El extracto etanólico ha presentado de 1.8 a 3% de saponinas esteroidales. (Cáceres, 2009; Martins, et al., 2014)

- **Indicaciones terapéuticas**

Posee actividad antirreumática, antiinflamatoria, antioxidante, diurética y tónica por lo que está indicado para el tratamiento de artritis, reumatismo

crónico, decaimiento, lepra y disuria, por vía oral. Por su actividad antifúngica, antiprurítica, cicatrizante y desinflamante se recomienda su uso tópico en el tratamiento de psoriasis, eczema y otras afecciones crónicas de la piel. (Cáceres, 2009; Mukherjee, 2002)

- **Toxicología**

La administración aguda (0.5 a 3.0 g/Kg) del extracto no produjo efectos tóxicos en ratones después de 24 horas. La administración crónica (100 mg/Kg durante 90 días), no produjo síntomas ni cambios de peso o sanguíneos sugestivos de toxicidad. (Rafatulla, Mossa & Al-Yahya, 1991)

- **Dosis y presentaciones**

Administrar 2-3 veces/día durante 4-6 semanas a dosis de:

- Decocción de 1-5 g/taza
- Tintura 1:10 en alcohol 35%; 3-8 mL
- Extracto líquido en alcohol al 20%: 4-8 mL
- Cápsulas de 0.3-1.5 g  
(Cáceres, 2009)

### 13.1.2 Saponinas

Las saponinas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Su estructura contiene una anglicana esteroideal o triterpenoide, también conocida como saponina y una o más cadenas de azúcar. Debido a la diversidad estructural en este grupo, se pueden observar diversas propiedades fisicoquímicas y biológicas que son aplicada de manera tradicional o industrial. (Güçlü-Üstündağ & Mazza, 2007).

Uno de los usos industriales que se les ha dado a las saponinas esteroidales, es utilizarlos como precursores únicos de muchos medicamentos esteroides

tales como hormonas sexuales, corticoides, contraceptivos orales y diuréticos. (Martínez, 2001)

Entre las actividades biológicas atribuidas a las saponinas esteroidales que se han reportado se encuentran: Actividad analgésica, anti alérgico, anti edematoso, anti exudativo, antifúngico, antígeno tóxico, efecto hepatoprotector, antiinflamatorio, antimicrobiano, antimutagénico, antiobesidad, antioxidante, antiparasitario, antiflogístico, antiprotozoario, antipsoriático, antipirético, antiespasmódico, antitrombóticos, antitusivo (aliviar o prevenir la tos, antiulceroso, antivirulento, quimiopreventivo, citotóxico, diurético, efecto en la absorción de minerales y vitaminas, efecto en el comportamiento cognitivo, efecto en la amnesia inducida por etanol, efecto sobre la hiperactividad inducida por morfina / nicotina, expectorante, hemolítico, hipocolesterolémico, hipoglucémico, efectos inmunoestimulantes, aumentar la permeabilidad de las células de la mucosa intestinal, inhibir el transporte de nutrientes activos, neuroprotector, reducción en la absorción de grasas y sedante. (Güçlü-Üstündağ & Mazza, 2007; Martínez, 2001; Rafatulla, et. al, 1991).

El descubrimiento de estos efectos ha permitido que productos compuestos por extractos de saponinas o plantas que contienen esta molécula, se han patentado para la prevención o tratamiento de condiciones como inflamación, alcoholismo, pre y post síntomas menopáusicos, enfermedad cardio y cerebrovascular e hipertensión. (Güçlü-Üstündağ & Mazza, 2007).

### **13.1.3 Cápsulas de Gelatina Dura**

Las cápsulas son formas farmacéuticas sólidas que contienen principios activos dentro de una cubierta soluble, ya sea esta blanda o dura. Por lo general está cubierta está formada por gelatina y, aunque esta puede ser también de almidón. (The United States Pharmacopeia Convention (USP), 2009)



Las cápsulas de gelatina dura también son denominadas cápsulas de llenado en seco, se caracterizan por estar conformadas por dos secciones, llamadas cuerpo y cabeza, las cuales tienen ranuras moldeadas que facilitan el cierre perfecto para cubrir por completo la formulación realizada. Son una de las formas farmacéuticas más antiguas y versátiles. Por lo general están fabricadas con gelatina con poder gelificante relativamente alto, preservantes, saborizantes, tensioactivos, colorantes FD&C y un contenido normalmente entre el 12 y 16% de agua, en tamaños estándares, desde la No. 5 que es la más pequeña hasta la No. 000 que es la más grande. Sin embargo, por la dificultad para poder ingerirlas, las cápsulas No. 00 son el mayor tamaño aceptado por los pacientes. (Bhatt & Aggrawal, s.f.; Gennaro, 2003; Stegeman, 2002; USP, 2009; The United States Pharmacopeia Convention (USP), 2017)

**Figura A**



*Figura A Tamaño de Cápsulas*

(Remington, 2003)

Durante las operaciones de llenado (encapsulado), suelen ser llenadas con polvos o gránulos. (USP, 2009)

**Tabla A**

*Especificaciones de las Cápsulas de Gelatina dura por Tamaño*

Tamaño	Diámetro exterior (mm)	Altura o largo de cápsula cerrada (mm)	Volumen real (mL)	Pesos de llenado estándar (mg), polvos con densidad 0,70
000	9.91	26.14	1.37	960
00	8.53	23.30	0.95	665
0	7.65	21.70	0.68	475
1	6.91	19.40	0.50	350
2	6.35	18.00	0.37	260
3	5.82	15.90	0.30	210
4	5.31	14.30	0.21	145
5	4.91	11.10	0.13	90

(Bhatt & Aggrawal, s.f.)

### **Ventajas de las Cápsulas**

- Enmascaran los sabores y olores desagradables de los principios activos, por lo que facilitan la administración
- Son económicas
- Por sus características físicas son inertes, de fácil y rápida digestión en el tracto gastrointestinal
- Por su composición proveen protección de la luz  
(Bhatt & Aggrawal, s.f.; Stegeman, 2002)

### **Desventajas de las Cápsulas**

- No pueden ser llenadas con materiales higroscópicos ya que se degradan con mayor facilidad, reblandeciendo o rompiendo la cápsula.
- Necesitan condiciones óptimas de almacenamiento  
(Bhatt & Aggrawal, s.f.; Stegeman, 2002)

#### **13.1.4 Estabilidad**

La estabilidad es la capacidad de un producto farmacéutico en particular, de mantener las especificaciones físicas, químicas, microbiológicas terapéuticas y toxicológicas, al ser almacenados en condiciones normales de temperatura y humedad. Durante el tiempo en que este se mantiene en el mercado.

Los estudios de estabilidad tienen el fin de determinar el tiempo de vida útil de un medicamento en el envase primario en el cual se comercializará, en condiciones ambientales de almacenamiento específicas. Estos estudios se dividen en estudios de estabilidad acelerada y estudios de estabilidad a largo plazo o tiempo real. (COMIECO, 2010)

Algunas de las principales diferencias entre estos tipos de estudio de estabilidad se encuentran, el tiempo y condiciones de almacenamiento a las

cuales se realizan, siendo los estudios de estabilidad acelerados diseñados con el fin de aumentar la tasa de degradación química o física de un medicamento, por medio de condiciones extremas de almacenamiento.

Para el desarrollo adecuado de los estudios de estabilidad se debe tomar en cuenta, las zonas climáticas establecidas por la OMS, las cuales han sido separadas según valores medios de temperatura y humedad relativa, monitoreados en distintas ciudades específicas. Entrando Guatemala en la zona climática IVb. Es de importancia conocer que los estudios de estabilidad acelerada son una fuente inicial para establecer el tiempo de caducidad de un medicamento, sin embargo, estos deben ser reforzados por estudio de estabilidad a largo plazo. (COMIECO, 2010; The United States Pharmacopeia Convention (USP), 2007)

### Tabla B

*Condiciones Estudios de Estabilidad Acelerados*

TIEMPO 6 MESES (180 DIAS)	
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	FRECUENCIA DE ANÁLISIS
40° C ± 2° C con 75 % ± 5 % de humedad relativa para formas farmacéuticas sólidas	Inicial 90 días 180 días
40° C ± 2° C para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas	Inicial 90 días 180 días

(COMIECO, 2010)

### Tabla C

*Condiciones para realizar estudios de estabilidad a largo plazo*

Se almacenarán en condiciones de almacenamiento para zona climática IVb (30 ±2°C y 75 ±5% HR), realizando un análisis según el siguiente cuadro:	
PERIODO	FRECUENCIA DE ANÁLISIS
Primer año	Tiempo Inicial, tiempo intermedio y 12 meses.
Segundo año	24 meses
Tercer año	Cada 12 meses hasta un máximo de 5 años.

(COMIECO, 2010)

### 13.1.5 Aspectos de cinética química

La Cinética Química estudia la velocidad de las reacciones químicas. Ésta depende de diferentes factores entre los cuales se encuentra la temperatura (T). Muy frecuentemente, la velocidad de las reacciones químicas se puede expresar a través de una ecuación cinética similar a (Levine, 2014):

$$v = k[A]^n[B]^m$$

**Ecuación 1** Ecuación cinética: velocidad de reacción

Donde k es la constante cinética, A y B los componentes del medicamento y n y m es el orden de reacción respectivamente. Ni la concentración de componentes ni el orden de reacción dependen de la temperatura, por lo tanto, concluimos que si la velocidad de reacción depende de la temperatura es porque la constante cinética k depende de la temperatura. Para muchas reacciones, esta dependencia de k respecto de la temperatura se puede expresar según una ecuación empírica, la ecuación de Arrhenius (Levine, 2014; Logan, 2000).

$$k = Ae^{-Ea/RT}$$

**Ecuación 2** Ecuación de Arrhenius

Según esta ecuación, k aumenta de modo exponencial cuando aumenta la temperatura.

La estabilidad de medicamentos experimenta procesos que se asocian con reacciones químicas y pueden ser explicadas por un sistema de ecuaciones propias de la cinética química.

### 13.1.6 Orden de reacción

El orden de reacción este definido como la suma de los exponentes de las concentraciones en la ley de velocidad de reacción. Este es también llamado orden total de reacción, pues el orden depende del reactivo que se analice. Dado por la ecuación 1. (Levine, 2014)

En los estudios de estabilidad de medicamentos, se pueden presentar situaciones en las cuales la degradación será constante independientemente de la concentración (orden 0), proporcional a la concentración (orden 1) o depender de la concentración de varios componentes (orden 2). Por ello es conveniente conocer el orden de reacción dado que la velocidad de reacción se ve afectado este.

#### 13.1.6.1 Reacciones de orden cero

En este tipo de reacciones, la descomposición del fármaco es independiente de su concentración, viene dada por la ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = -k_0$$

Cuya integración conduce a:

$$\int_{C_0}^{C_t} dC = -k_0 \int_{C_0}^{C_t} dt$$

$$C_t - C_0 = -k_0 t$$

$$C_t = C_0 - k_0 t$$

Dónde  $C_0$  es la concentración inicial de fármaco. Y por tanto a una variación lineal de la concentración con el tiempo.

Una representación lineal permite determinar  $k_0$  a través de su pendiente. Muchas de las reacciones de degradación que se presentan en estado sólido o en suspensión son de orden 0.

El tiempo de vida media sería:

$$t_{1/2} = \frac{C_0}{2k_0}$$

**Ecuación 3** Vida media orden de reacción cero

Y la vida útil sería:

$$0.9C_0 = C_0 - k_0 t_{10\%}$$

$$k_0 t_{10\%} = 0.1C_0$$

$$t_{10\%} = \frac{0.1C_0}{k_0}$$

**Ecuación 4** Vida útil orden de reacción cero

**Figura 2**

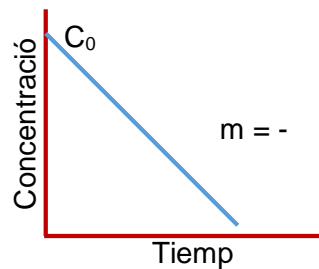


Figura 2 Gráfica de una reacción de orden cero

(Cordoba, Cordoba & Lozano, 2012; Logam, 2000)

### 13.1.6.2 Reacciones de primer orden

Las reacciones de primer orden son dependientes de la concentración de los reactivos. Se considera la situación más común; una degradación con una reacción de primer orden depende de la concentración de principio activo.

Dada por la ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = -k_1 C$$

La integración de esta ecuación conduce a una expresión logarítmica:

$$\int_{C_0}^{C_t} \frac{dC}{C} = -k_1 \int_0^t dt$$

$$\ln C_t - \ln C_0 = -k_1 t$$

$$\ln C_t = \ln C_0 - k_1 t$$

Representando  $\ln [C]$  frente al tiempo se obtiene una recta de pendiente igual a  $-k$  y con ordenada en el origen igual a  $\ln [C_0]$ . En procesos gobernados por leyes de primer orden la concentración de reactivo,  $C$ , disminuye exponencialmente y, de manera simultánea, la concentración de producto aumenta también exponencialmente.

$$C = C_0 e^{-kt}$$

$$C = C_0 (1 - e^{-kt})$$

Por tanto, es un proceso dependiente de la concentración, al determinar tiempo de vida media tendríamos:

$$\frac{C_o}{2} = C_o e^{-kt/2}$$

Y, por tanto, la vida media viene dada por:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

**Ecuación 5** Vida media primer orden de reacción

Para la vida útil sería:

$$\ln(0.9C_o) = \ln C_o - k_1 t_{10\%}$$

$$k_1 t_{10\%} = \ln C_o - \ln(0.9C_o)$$

$$\ln\left(\frac{C_o}{0.9C_o}\right) = \ln 1.1$$

$$t_{10\%} = \frac{\ln 1.11}{k_1}$$

$$t_{10\%} = \frac{0.105}{k_1}$$

**Ecuación 6** Vida media primer orden de reacción

**Figura 3**

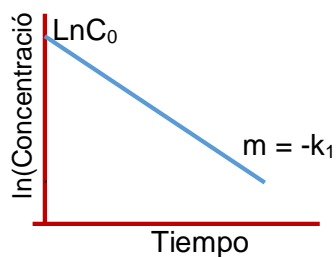


Figura 3 Gráfica de una reacción de primer orden

(Cordoba, Cordoba & Lozano, 2012; Levine, 2014; Logan, 2000)



**Tabla D***Ecuaciones por orden de reaccion*

Orden De Reacción	Forma Integrada De Ecuación	Vida Media (Semivida De Degradación)	Vida Útil
<b>Cero</b>	$C = C_o - k_o t$	$t_{1/2} = \frac{C_o}{2k_o}$	$t_{10\%} = \frac{0.1C_o}{k_o}$
<b>Primer</b>	$C = C_o e^{-kt}$ $\ln C_f = \ln C_o - k_1 t$	$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$	$t_{10\%} = \frac{0.105}{k_1}$

Nota: En la Tabla D se observa un resumen de las ecuaciones de vida media y vida util para cada orden de reaccion

### 13.1.7 Factores que afectan a la velocidad de las reacciones

Existen varios factores que afectan la rapidez de una reacción química: la concentración de los reactivos, la temperatura, la existencia de catalizadores y la superficie de contactos tanto de los reactivos como del catalizador. Los catalizadores pueden aumentar o disminuir la velocidad de reacción.

#### 13.1.7.1 Temperatura

Por norma general, la rapidez de reacción aumenta con la temperatura porque al aumentarla incrementa la energía cinética de las moléculas. El efecto de la temperatura en la constante de velocidad,  $k$ , viene indicada por la ecuación de Arrhenius, ecuación 2.

$$k = A e^{-E_a/RT}$$

Dónde:

A = Factor de frecuencia (cte)

E<sub>a</sub> = Energía de activación

R = Constante de los gases (8.3146 J \* K mol<sup>-1</sup>)

T = Temperatura en grados Kelvin

La temperatura provoca que el valor de k se duplique o triplique por cada 10 °C que aumente

La energía de activación ( $E_a$ ) está relacionada con la barrera de energía que deben superar los reactivos para transformarse en productos, por lo que un valor elevado de la misma provoca un valor reducido de k y por lo tanto de v. Sus dimensiones son de energía por cada mol.

El factor preexponencial o factor de frecuencia (A) tiene las mismas unidades que k. El modo más cómodo de trabajar con la ecuación de Arrhenius es transformarla en su forma linealizada. Si se aplican logaritmos naturales a ambos lados de la igualdad, se obtiene:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} - \frac{1}{T}$$

**Ecuación 7** Ecuación de Arrhenius linealizada

Ésta es la ecuación de una línea recta, donde Y es  $\ln k$ , X es  $1/T$ , la ordenada en el origen es  $\ln A$  y la pendiente es  $-E_a/R$ . En la figura 4 se muestra una representación de dicha línea recta.

**Figura 4**

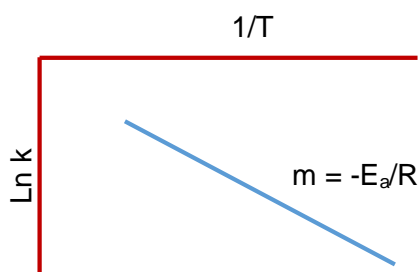


Figura 4 Dependencia lineal de  $\ln k$  respecto a  $1/T$

Por lo tanto, a partir de una tabla de valores de k frente a T será sencillo obtener el valor de  $E_a$ . Simplemente habrá que añadir dos

columnas a la tabla de  $\ln k$  y  $1/T$ , representar la primera frente a la segunda y hallar el valor de la pendiente, del cual despejaremos  $E_a$ .

Otro modo alternativo de trabajar con la ecuación de Arrhenius es considerar solamente dos puntos de dicha recta. Así, a una temperatura  $T_1$  la constante cinética tomaría un valor  $k_1$ , y del mismo modo para el par de valores  $T_2$ - $k_2$ . Escribiendo la ecuación de Arrhenius linealizada para ambos puntos, y restando ambas ecuaciones se obtendría:

$$\ln\left(\frac{k_1}{k_2}\right) = -\frac{E_a}{R}\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)$$

**Ecuación 8** Ecuación de Arrhenius linealizada para dos pares de valores  
T-k

(Cordoba, Cordoba & Lozano, 2012; Levine, 2014)

### 13.2 Datos fase experimental

**TABLA E**

*Curva de calibración estándar de diosgenina*

Estándar	Concentración de diosgenina (ppm)	Absorbancia (ABS)
1	2	0.1062
2	4	0.1893
3	6	0.2742
4	8	0.3490
5	10	0.4382
<b>Coefficiente de determinación</b>		0.9995
<b>Ecuación de regresión</b>		$y = 0.0412x + 0.024$

(Fuente Propia, 2019)

*Análisis de Regresión Lineal de la curva de calibración*

#### Resumen

<b>Estadísticas de la regresión</b>	
<b>Coefficiente de correlación múltiple</b>	0.999741295
<b>Coefficiente de determinación R<sup>2</sup></b>	0.999482656
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	0.999310208
<b>Error típico</b>	0.003421452
<b>Observaciones</b>	5

#### ANÁLISIS DE VARIANZA CURVA DE CALIBRACION

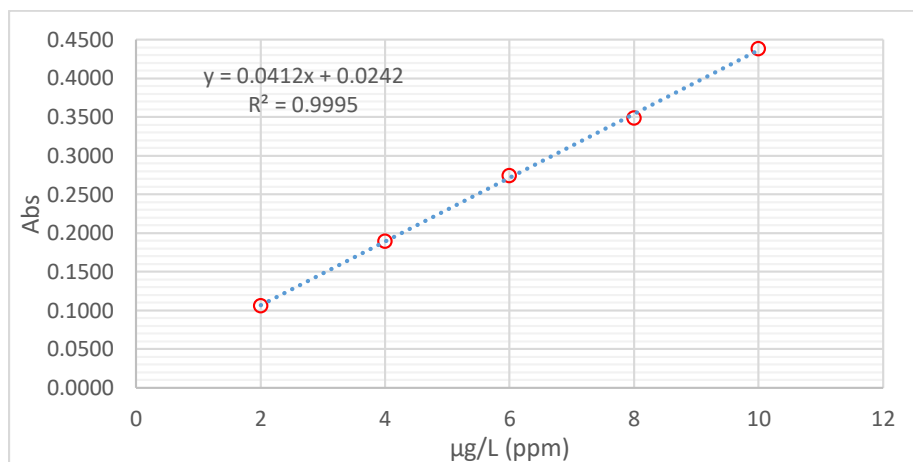
	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Valor crítico de F</b>
<b>Regresión</b>	1	0.06784817	0.06784817	5795.85145	4.9949E-06
<b>Residuos</b>	3	3.5119E-05	1.1706E-05		
<b>Total</b>	4	0.06788329			

	<b>Coefficientes</b>	<b>Error típico</b>	<b>Estadístico t</b>	<b>Probabilidad (p)</b>	<b>Inferior 95%</b>	<b>Superior 95%</b>
Intercepción	0.02427	0.003588449	6.763367568	0.006604145	0.012849954	0.035690046
Concentración (ppm)	0.041185	0.000540979	76.13048961	4.99488E-06	0.039463363	0.042906637

(Fuente Propia, 2019)

**GRÁFICA A**

Curva de calibración del estándar de diosgenina



(Fuente Propia, 2019)

Ecuación utilizada para encontrar la concentración de las muestras

$$y = mx + b$$

En donde:

y = absorbancia

x = concentración

m = 0.0412

b = 0.0242

Nota: Se realizó una curva de calibración (Tabla A) con estándar de diosgenina a las concentraciones observadas en la tabla E, utilizando el método desarrollado por Baccou & Lambert, por espectrofotometría UV-Vis. Para determinar la concentración de saponinas esteroidales en cápsulas de gelatina dura de zarzaparrilla (*Smilax regelii*). Para poder utilizar esta curva de calibración se realizó un análisis de regresión lineal en el cual se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9997 que indica una relación lineal entre la concentración y absorbancia de los estándares; así como un valor F experimental > F crítico, que indica que existe una correlación lineal significativa de los datos (Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI), 2001), lo que permite la utilización de la curva.

**Tabla F***Determinación de concentración inicial (Tiempo 0)*

Lote	Muestra	$\mu\text{g/mL}$ (ppm)	Media (ppm)
L1	mx1	38.7	37.4
L1	mx2	36.0	
L1	mx3	37.5	
L2	mx1	37.3	36.8
L2	mx2	37.5	
L2	mx3	35.5	
L3	mx1	36.2	36.9
L3	mx2	36.4	
L3	mx3	38.1	
Media			37.0 ppm

(Fuente Propia, 2019)

Nota: La concentración media de los tres lotes estudiados 37.0 ppm de saponinas esteroidales equivalen al 100% de concentración para el presente trabajo de investigación.

**Tabla G***Concentración de Saponinas esteroidales tiempos 0, 45, 90, 135 y 180*

Lote	Muestra	Abs	$\mu\text{g/mL}$ (ppm)	Media (ppm)	Concentración de Saponinas (%)
<b>T0</b>					
<b>L1</b>	mx1	1.6195	38.7	37.4	101.1
	mx2	1.5085	36.0		
	mx3	1.5678	37.5		
<b>L2</b>	mx1	1.5589	37.3	36.8	99.4
	mx2	1.5674	37.5		
	mx3	1.4862	35.5		
<b>L3</b>	mx1	1.5169	36.2	36.9	99.7
	mx2	1.5239	36.4		
	mx3	1.5958	38.1		
<b>T45</b>					
<b>L1</b>	mx1	1.5872	37.9	36.4	98.4
	mx2	1.5154	36.2		
	mx3	1.4717	35.1		
<b>L2</b>	mx1	1.4793	35.3	36.1	97.6
	mx2	1.5337	36.6		
	mx3	1.5255	36.4		
<b>L3</b>	mx1	1.5063	36.0	35.9	97.1
	mx2	1.5160	36.2		
	mx3	1.4894	35.6		

T90					
L1	mx1	1.5054	36.0	35.8	96.8
	mx2	1.5228	36.4		
	mx3	1.4663	35.0		
L2	mx1	1.4830	35.4	35.3	95.4
	mx2	1.4525	34.7		
	mx3	1.4972	35.8		
L3	mx1	1.4912	35.6	35.8	96.7
	mx2	1.5152	36.2		
	mx3	1.4855	35.5		
T135					
L1	mx1	1.4728	35.2	34.6	93.5
	mx2	1.4435	34.4		
	mx3	1.4352	34.2		
L2	mx1	1.4620	34.9	34.8	94.1
	mx2	1.4797	35.3		
	mx3	1.4334	34.2		
L3	mx1	1.4423	34.4	34.6	93.6
	mx2	1.4601	34.9		
	mx3	1.4484	34.6		
T180					
L1	mx1	1.4123	33.7	33.7	91.2
	mx2	1.3939	33.2		
	mx3	1.4378	34.3		
L2	mx1	1.4158	33.8	33.6	90.9
	mx2	1.4180	33.8		
	mx3	1.3968	33.3		
L3	mx1	1.3981	33.3	33.5	90.5
	mx2	1.4152	33.8		
	mx3	1.4011	33.4		

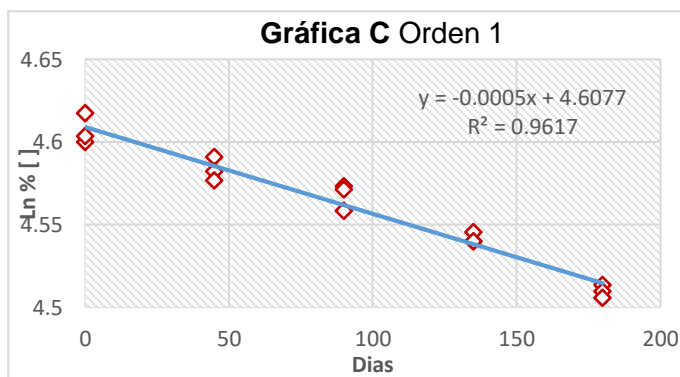
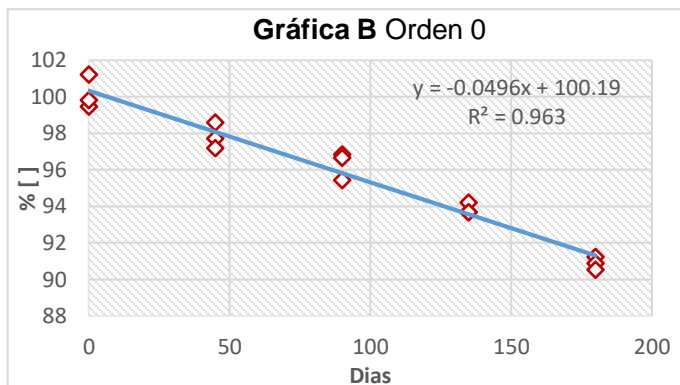
(Fuente Propia, 2019)

Nota: Se determinó la concentración de saponinas esteroidales de cada una de las muestras por lote en cada intervalo de tiempo, utilizando para ello la ecuación de recta obtenida de la curva de calibración, con lo que se determinaron la ppm de saponinas esteroidales a partir de la absorbancia (Abs) obtenida en la prueba espectrofotométrica. También se transformó la concentración de ppm a % [ ], para lo cual con fines de la investigación se tomó la concentración inicial promedio de 37 ppm como el 100%.

TABLA H

Determinación de orden de reacción

Tiempo	Saponinas Esteroidales	
	% [ ]	ln [ ]
0	101.1	4.6159
0	99.4	4.5988
0	99.7	4.6025
45	98.4	4.5888
45	97.6	4.5805
45	97.1	4.5759
90	96.8	4.5722
90	95.4	4.5581
90	96.7	4.5713
135	93.5	4.5381
135	94.1	4.5439
135	93.6	4.5391
180	91.2	4.5127
180	90.9	4.5098
180	90.5	4.5058



(Fuente Propia, 2019)

Parámetros	Orden Cero	Primer Orden
b	100.19	4.6077
m	-0.0496	-0.0005
R <sup>2</sup>	0.9630	0.9617

**Conclusión** Se considera de orden cero

(Fuente Propia, 2019)

Nota: Al determinarse la igualdad entre los lotes en estudio y la posibilidad de combinarlos, se determinó el orden de reacción, construyendo para ello gráficas de regresión lineal para cada orden. Para orden cero se utilizaron los % [ ] de saponinas esteroidales y para el orden uno se utilizó el logaritmo natural (Ln) % [ ]. Para establecer el orden de reacción se compararon los coeficientes de determinación  $R^2$ , siendo el más cercano a 1, el que determina el orden de reacción. Solo se tomó en cuenta el orden de reacción cero y uno, y no así el dos debido a que son pocas las moléculas que siguen este orden de reacción.



**TABLA I**  
*Determinación de vida útil*

Datos			
$^{\circ}T_1$	25 °C	$T_1$	298.15 K
$^{\circ}T_2$	40 °C	$T_2$	313.15 K
$k_1$	Determinar	$\ln k_1$	Determinar
$k_2$	0.0502	$\ln k_2$	-2.9917
$Ea^*$	44100 J mol <sup>-1</sup>	$R$	8.3145 J * K mol <sup>-1</sup>

\*Energía de activación de la diosgenina determinada por Fei-xiong *et al.*, 2013

(Fuente Propia, 2019)

$$\ln k_1 = \ln A - \frac{Ea}{R} * \frac{1}{T_1} \quad \ln k_2 = \ln A - \frac{Ea}{R} * \frac{1}{T_2}$$

$$\ln \frac{k_1}{k_2} = -\frac{Ea}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

$$\ln k_1 - \ln k_2 = -\frac{Ea}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

$$\ln k_1 = -\frac{Ea}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) + \ln k_2$$

$$\ln k_1 = -\frac{44100 \text{ J} * \text{mol}^{-1}}{8.3145 \text{ J} * \text{K mol}^{-1}} \left( \frac{T_2 - T_1}{T_1 * T_2} \right) - 2.9917$$

$$\ln k_1 = -\frac{44100 \text{ J} * \text{mol}^{-1}}{8.3145 \text{ J} * \text{K mol}^{-1}} \left( \frac{(313.15 - 298.15) \text{ K}}{(298.15 * 313.15) \text{ K}} \right) - 2.9917$$

$$\ln k_1 = -0.8521 - 2.9917$$

$$\ln k_1 = -3.8438$$

$$k_1 = e^{-3.8438}$$

$$k_1 = 0.0214$$

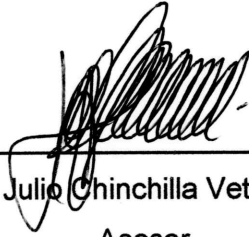
Nota: Para poder determinar la vida útil de las cápsulas de gelatina dura de zarzaparrilla (*Smilax regelii*) a 25°C. Se determinó la constante k a esta temperatura. Al no poderse determinar la energía de activación, debido a que el estudio se realizó a una única temperatura, se utilizó como referencia la energía de activación de la diosgenina determinada por Fei-xiong *et al.* Utilizando la forma linealizada de la ecuación de Arrhenius, por medio de la resta de esta ecuación entre temperaturas 1 y 2, donde se obtuvo un valor de K a 25°C de 0.0214.



---

Br. Daniel Medina Colón

Autor



---

Lic. Julio Chinchilla Vettorazzi

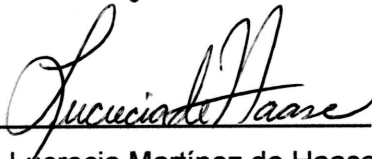
Asesor



---

Licda. Julia Amparo García Bolaños M.A.

Revisora



---

M.A. Lucrecia Martínez de Haase

Directora Escuela de Química Farmacéutica



---

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano de la Facultad de CC. QQ. y Farmacia