

Como ser un cazador de impurezas en las sustancias activas: Una metodología y casos de estudio

Juan Carlos Ortiz Lara

Sintenovo, S.A. de C.V. Calle 13 Este nº 3 62578 Civac, Jiutepec, Estado de Morelos, México.

Correo electrónico: jcortiz@sintenovo.com.mx

Recibido: 19 de julio de 2024

Corregido: 24 de enero de 2025

Aceptado: 28 de enero de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n1.119554>

RESUMEN

Introducción. El contenido de impurezas en las sustancias activas y formas farmacéuticas es un tópico de suma importancia ya que un alto contenido de subproductos podría poner en riesgo a la población. En función del conocimiento de la estructura se tienen diferentes límites. Por lo tanto, es mandatorio conocer el origen y las estructuras químicas de las impurezas con objeto de poder limitarlas. En lo que respecta a los procesos de fabricación, siempre hay una pequeña posibilidad de que algún proceso tenga una excursión en alguna variable ya sea por error humano o por falla en algún equipo. **Intención.** Por lo tanto, es necesario saber cómo gestionar este tipo de problemáticas y lo más importante evitar reincidencias. Para lograr este objetivo es necesario desarrollar una metodología que brinde una pauta seguir. El conocimiento de la estructura, así como una investigación de carácter científico ayudara a proponer las medidas correctivas operativas adecuadas para evitar la recurrencia y poder continuar la fabricación de producto que cumpla con las normativas y especificaciones vigentes. La implementación de acciones que deriven en el rápido control de las problemáticas es de capital importancia para la industria farmacéutica con el objetivo tener medidas alternativas de control y seguir fabricando ya que los pacientes esperan esas medicinas. **Resultados.** En esta revisión se presenta una metodología para elucidar impurezas orgánicas ya sea en las sustancias activas o en las formas farmacéuticas. Se presentarán diez casos teóricos y se exemplificara con casos similares descritos en la literatura. También se comentarán las principales herramientas utilizadas para realizar investigaciones. Así mismo, se brindará una perspectiva de los avances analíticos utilizados para elucidar impurezas. Finalmente, se comentarán algunas propuestas de control.

Palabras claves: Impurezas; elucidación; sustancias activas; formas farmacéuticas; investigación; control.

SUMMARY

How to be an impurity hunter in the pharmaceutical ingredients: a methodology and study cases

Introduction. The content of impurities in active substances and pharmaceutical forms is a very important topic since a high content of byproducts could put the population at risk. Depending on the knowledge of the structure, there are different limits. Therefore, it is mandatory to know the origin and chemical structures of the impurities in order to limit them. When it comes to manufacturing processes, there is always a small possibility that a process may have an excursion in some variable either due to human error or equipment failure. **Intention.** Therefore, it is necessary to know how to manage this type of problem and, most importantly, avoid recurrence. To achieve this objective, it is necessary to

develop a methodology that provides a guideline to follow. Knowledge of the structure, as well as scientific research, will help propose appropriate operational corrective measures to avoid recurrence and be able to continue manufacturing a product that complies with current regulations and specifications. The implementation of actions that lead to the rapid control of problems is of capital importance for the pharmaceutical industry with the objective of having alternative control measures and continuing to manufacture since patients expect these medicines. **Results.** In this review, a methodology is presented to elucidate organic impurities either in active substances or in pharmaceutical forms. Ten theoretical cases will be presented and exemplified with similar cases described in the literature. The main tools used to carry out research will also be discussed. Likewise, a perspective of the analytical advances used to elucidate impurities will be provided. Finally, some control proposals will be commented.

Keywords: Impurities; elucidation; pharmaceutical ingredients; pharmaceutical dosage forms; investigation; control.

RESUMO

Como ser um caçador de impurezas em substâncias ativas: uma metodologia e estudos de caso

Introdução. O teor de impurezas em substâncias ativas e formas farmacêuticas é um tema de extrema importância, uma vez que um elevado teor de subprodutos pode colocar a população em risco. Dependendo do conhecimento da estrutura, existem diferentes limites. Portanto, é obrigatório conhecer a origem e as estruturas químicas das impurezas para limitá-las. Quando se trata de processos de fabricação, sempre existe uma pequena possibilidade de que um processo possa sofrer uma excursão em alguma variável, seja por erro humano ou falha de equipamento. **Intenção.** Por isso, é preciso saber administrar esse tipo de problema e, o mais importante, evitar a recorrência. Para atingir este objetivo é necessário desenvolver uma metodologia que forneça uma diretriz a seguir. Os conhecimentos da estrutura, bem como a investigação científica, ajudarão a propor medidas corretivas operacionais adequadas para evitar recorrências e poder continuar a fabricar um produto que cumpra as normas e especificações vigentes. A implementação de ações que levem ao rápido controle dos problemas é de capital importância para a indústria farmacêutica com o objetivo de ter medidas alternativas de controle e continuar a fabricar uma vez que os pacientes esperam estes medicamentos. **Resultados.** Nesta revisão é apresentada uma metodologia para elucidar impurezas orgânicas tanto em substâncias ativas quanto em formas farmacêuticas. Serão apresentados dez casos teóricos e exemplificados com casos semelhantes descritos na literatura. Também serão discutidas as principais ferramentas utilizadas para a realização de pesquisas. Da mesma forma, será fornecida uma perspectiva dos avanços analíticos utilizados para elucidar as impurezas. Por fim, serão comentadas algumas propostas de controle.

Palavras-chave: Impurezas, elucidação, substâncias ativas, formas farmacêuticas, pesquisa, controle

1. INTRODUCCIÓN

El contenido de impurezas orgánicas presentes en las sustancias activas y/o formas farmacéuticas es un tema de gran importancia, principalmente porque las impurezas no aportan ningún beneficio terapéutico. De hecho, la definición de una impureza según la ICHQ3B menciona lo siguiente: Una impureza es cualquier componente que no sea la sustancia activa o los excipientes [1]. Por lo tanto, dentro de esta categoría entran toda una serie de sustancias tales como reactivos, catalizadores, disolventes residuales, materias primas, lixiviados, partículas extrañas, etc.

El impacto de las impurezas en las sustancias activas o formas farmacéuticas es crítico ya que dependiendo de su naturaleza pueden llegar a ser muy tóxicas (impureza genotóxica) que incluso sea motivo de retirada del medicamento del mercado. Esto sucedió recientemente para

una formulación de Valsartan ya que el medicamento se contaminó con *N*-Nitrosodimetilamina que es una sustancia cancerígena y se tuvo que retirar del mercado [2]. El siguiente caso es el del Nelfinavir el cual en 2007 se tuvo que recoger debido a la presencia de una impureza genotóxica [3]. Otro importante ejemplo es el del Ritonavir en el cual un polimorfo no esperado detuvo el lanzamiento del producto. Después de una investigación se determinó que la impureza correspondía a un nuevo polimorfo que se denominó forma II [4]. El último ejemplo es el dramático caso de la Talidomida que se comercializó en los años 70's como una mezcla racémica, en la cual el enantiómero *R* tiene un efecto sedativo y el enantiómero *S* un efecto teratógenico. Este medicamento fue el responsable de que miles de recién nacidos presentaran focomelia, caracterizada por malformaciones en brazos y piernas [5]. Estos casos son sólo una muestra del impacto de las impurezas en la industria Farmacéutica. Los argumentos antes expuestos justifican las regulaciones estrictas con respecto a las impurezas.

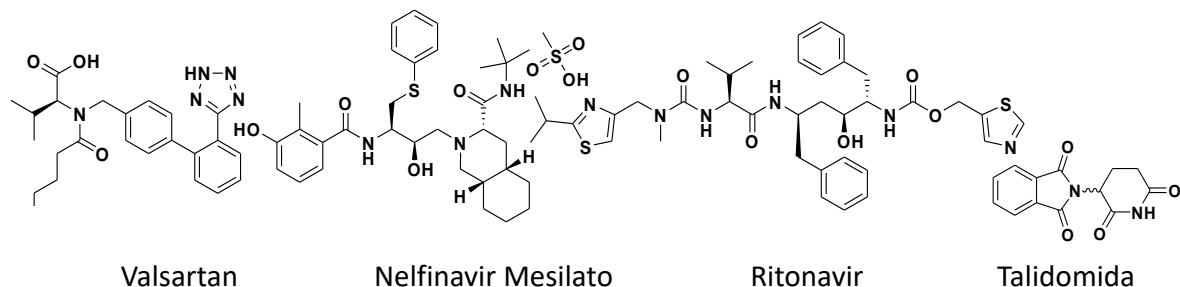


Figura 1. Principios activos con problemáticas por impurezas

En esta temática, la fabricación de fármacos está regulada en México por la norma NOM-164-SSA (Buenas prácticas de fabricación de fármacos) [6] y a nivel internacional por la ICHQ7 (Good manufacturing practice for active pharmaceutical ingredients) [7]. Uno de los aspectos esenciales en la fabricación de sustancias activas es el control de los procesos y en consecuencia control de los subproductos generados. Para lograr que las sustancias activas sean seguras, las agencias regulatorias establecieron guías adicionales que controlan y limitan el contenido de impurezas en las sustancias activas, principalmente porque estos compuestos no tienen un efecto terapéutico. Hay diferentes tipos de impurezas que se deben controlar, por ejemplo, las impurezas orgánicas y de degradación que se regulan por la ICHQ3A [8], este tipo de impurezas son las que se generan durante el proceso de fabricación. En general se pueden clasificar en: materiales de inicio, intermediarios remanentes, biscompuestos, productos de sobrerreacción, interacción, impurezas quirales, tautoméricas, entre otras. Otras sustancias consideradas contaminantes son los disolventes residuales los cuales también son considerados impurezas ya que tampoco aportan ningún efecto terapéutico. Los disolventes orgánicos están clasificados en función de su toxicidad y son controlados por la guía ICHQ3C (Guideline for residual solvents) [9]. Esta guía divide a los disolventes en 4 clases en función de su toxicidad siendo la clase 3 la más apta para utilizarse en la fabricación de sustancias activas. Algunos ejemplos pertenecientes a esta clase son: la acetona, acetato de etilo, heptano, terbutilmetyléter, dimetilsulfóxido, etc. Por su parte la guía ICHM7 [10] clasifica y regula a las impurezas genotóxicas las cuales son impurezas que pueden dañar a nivel de ADN. En este contexto varias estructuras han sido clasificadas como potencialmente genotóxicas, dentro de estos grupos se pueden mencionar: *N*-hidroxiarilos, aminoarilos *N*-acetilados, óxidos de *N*-azarilo, aminoarilos, aldehídos, *N*-nitrosaminas, nitrocompuestos, carbamatos, époxidos, aziridines, hidracinas, aceptores de Michael, haloalquenos, etc. [11].

Por su parte, la guía ICHQ3D [12] se encarga de regular las impurezas elementales, en esta guía se establecen los límites de aceptación en función de las vías de administración y se clasifican en función de su toxicidad, las principales fuentes de aportación de impurezas metálicas (catalizadores, reactivos, equipos productivos, entre otros) y se propone la evaluación del contenido y la decisión de ejecución del análisis de las impurezas elementales con base en un análisis de riesgo [13]. Finalmente, la NOM-059-SSA (Buenas prácticas de fabricación de medicamentos) [14] en México y a nivel internacional la guía ICHQ3B (Impurities in new drug products) [1] regula las impurezas en las formas farmacéuticas. En la figura 2 se compilan las guías asociadas al control de impurezas en las sustancias activas y formas farmacéuticas.

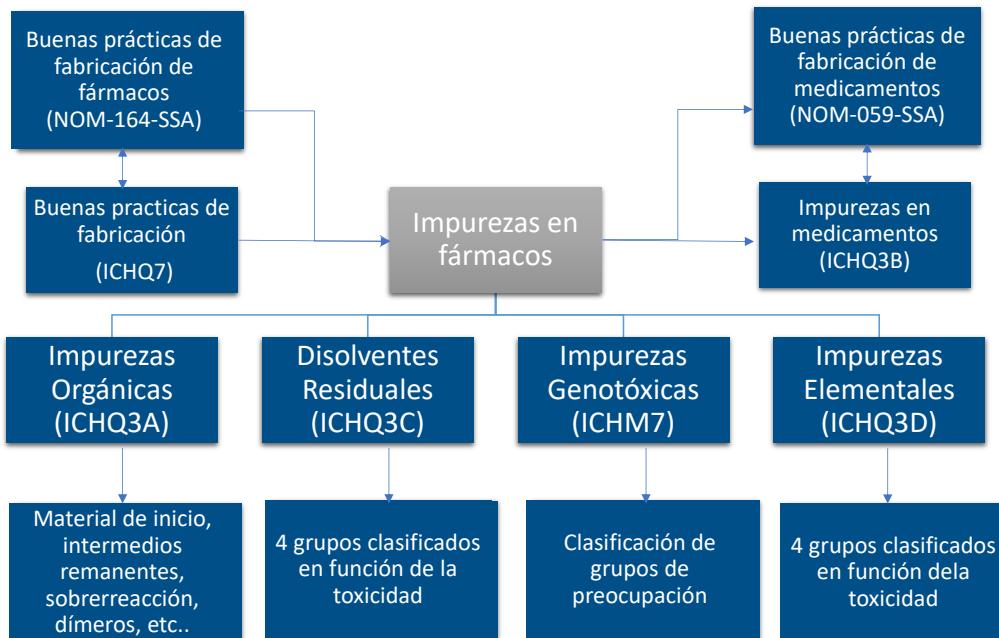


Figura 2. Guías ICH y SSA para el control de las impurezas en sustancias activas y medicamentos

Aunque ha habido un gran desarrollo de tecnología asociado al control de las impurezas, en ocasiones se presenta algún problema durante los procesos ya sea por falla de un equipo o error humano. Por ejemplo, en los procesos de fabricación se tienen que controlar proporciones de materias primas, temperatura, agitación, tiempos de reacción, desactivación de reactivos, tiempos de secado, tamaño de partícula, etc. Todos estos parámetros tienen un rango de trabajo y cuando la variable en cuestión sufre una excursión, es decir sale del rango establecido, potencialmente podría generarse una impureza. Por lo tanto, en caso de que una impureza se genere en un proceso determinado es importante disponer de alguna metodología para poder elucidar la estructura, minimizar el impacto que puede tener en diversos estadios del proyecto. Principalmente, por que la sustancia o el medicamento no estarían disponible para aliviar las enfermedades de los pacientes. Así que es necesario "cazar" la impureza lo más rápido posible con objeto de minimizar el impacto de esta problemática. Esta revisión propone una metodología para determinar la estructura de las impurezas generadas en el proceso de fabricación de las sustancias activas debido a potenciales excusiónes de las condiciones de reacción, así mismo se citan ejemplos descritos en la literatura.

2. IMPACTO DE LAS IMPUREZAS EN LOS PROCESOS DE FABRICACIÓN

En la fabricación de sustancias activas y de las formas farmacéuticas se utilizan protocolos bien establecidos, tales como hojas u órdenes de fabricación regidos bajo un sistema de Calidad y siguiendo las Buenas Prácticas de Fabricación. A pesar de seguir las buenas prácticas de fabricación al pie de la letra en ocasiones existen problemáticas tales como: la falla de un equipo, un corte energético o un error humano que podrían llevar a la excusión de una variable en un proceso determinado. Como consecuencia de estas excusiones o desviaciones al proceso establecido se pueden crear impurezas. La presencia de estas puede impactar la calidad, haciendo que el producto final no cumpla con las especificaciones propuestas. Debido a la presencia de impurezas, campañas de fabricación o validaciones pueden ser detenidas hasta la elucidación del problema. Las impurezas pueden tener diversos orígenes, ya sea en el proceso de fabricación las sustancias activas [15] o en el de las formas farmacéuticas [16]. Los principales tipos se representan en la Figura 3.

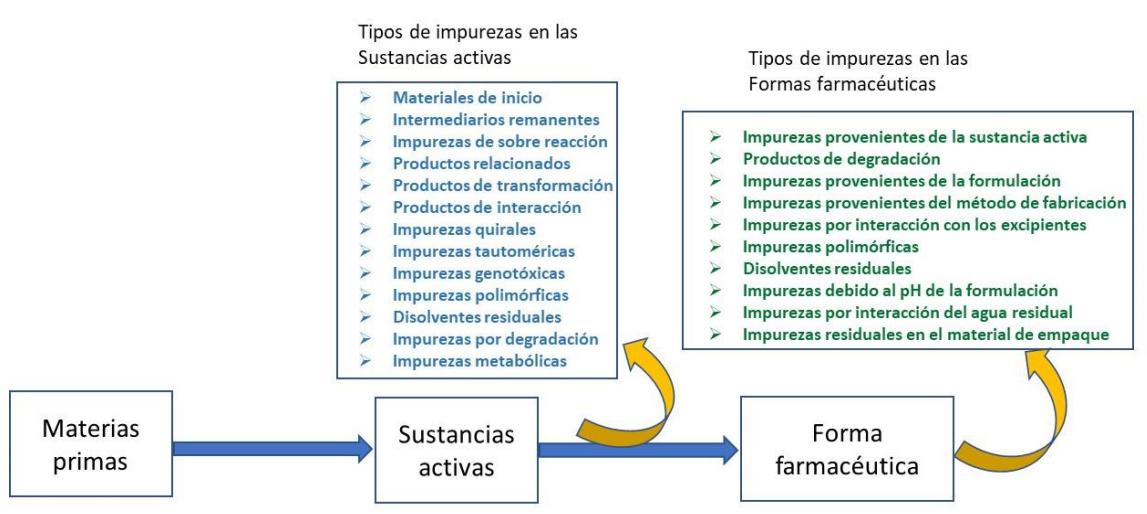


Figura 3. Tipos de impurezas orgánicas en las sustancias activas y en las formas Farmacéuticas

3. METODOLOGÍA PARA LA ELUCIDACIÓN DE UNA IMPUREZA DESCONOCIDA

En la fabricación de fármacos y las formas farmacéuticas se utilizan procedimientos bien establecidos los cuales tienen un rango de trabajo para cada operación unitaria, no obstante, en ocasiones puede haber algún problema que derive en la excusión de alguna variable. Esta desviación al proceso podría ocasionar la generación de una potencial impureza (Figura 4).

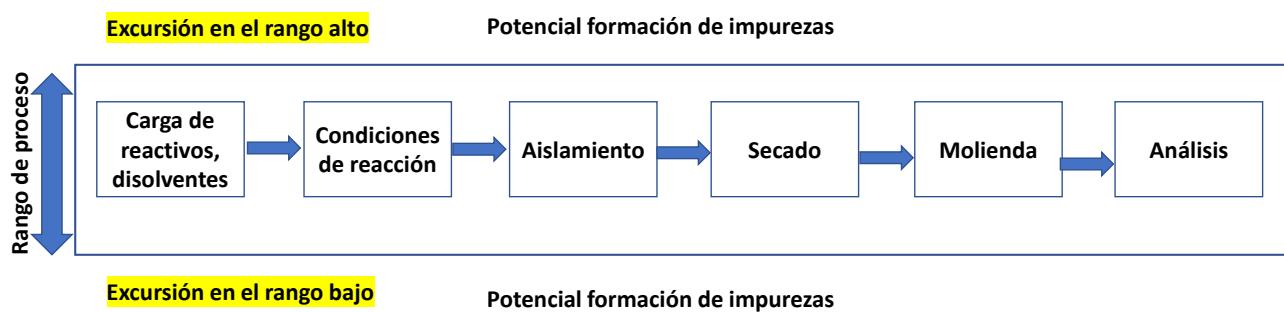


Figura 4. Excusión de una variable en un proceso de fabricación de una sustancia activa

Como se comentó previamente, una vez que se ha tenido un contratiempo que derive en un subproducto es necesario trabajar rápidamente para resolver el problema. Es por eso por lo que se necesita una guía que oriente en la resolución del inconveniente.

Para poder describir esta metodología, se parte del supuesto que durante el proceso de una sustancia activa o forma farmacéutica se obtiene una impureza en el producto aislado, por ejemplo: intermedio, sustancia activa, tableta, jarabe, etc. La impureza es debido a la excursión de una variable durante el proceso. Por una parte, es necesario saber ¿qué es lo que sucedió de diferente en el proceso? Y encontrar la causa raíz, así mismo se deben establecer acciones preventivas / correctivas para evitar recurrencia, para lo cual se deberá hacer una investigación.

Para poder llevar a cabo la tarea de elucidación, conocer el origen y poder proponer una acción correctiva es necesario plantear una metodología de trabajo.

Las etapas se resumirán a continuación y en los párrafos siguientes se describirá su desarrollo. El procedimiento es el siguiente:

1. Cuantificación de la impureza (¿cuánto hay?)
2. Trazabilidad (¿dónde se generó?)
3. Aislamiento (¿cómo se purificó?)
4. Análisis (¿qué análisis se realizaron?)
5. Elucidación estructural (¿cuál fue la estructura?)
6. Síntesis y confirmación estructural (¿es la estructura correcta?)
7. Investigación (¿qué pasó?)
8. Medidas de control (¿Cómo se evitará que suceda nuevamente?)
9. Seguimiento de las medidas de control (¿las medidas fueron efectivas? ¿Hubo reincidencia?)

La metodología se plasma en la figura 5. Por un lado, se tiene el proceso normal (casillas verdes), en segundo lugar, en caso de haber tenido una desviación al proceso y se genere una impureza (casillas azules), el producto potencialmente será rechazado. Por lo tanto, es imperativo por un lado saber qué es lo que sucedió y en segundo lugar aislar la impureza. Con estas dos actividades se podrán establecer acciones correctivas que harán que el proceso funcione correctamente y se evite reincidencia de la problemática. La parte final es hacer un seguimiento de la efectividad de las acciones correctivas para asegurar que no hay reincidencia.

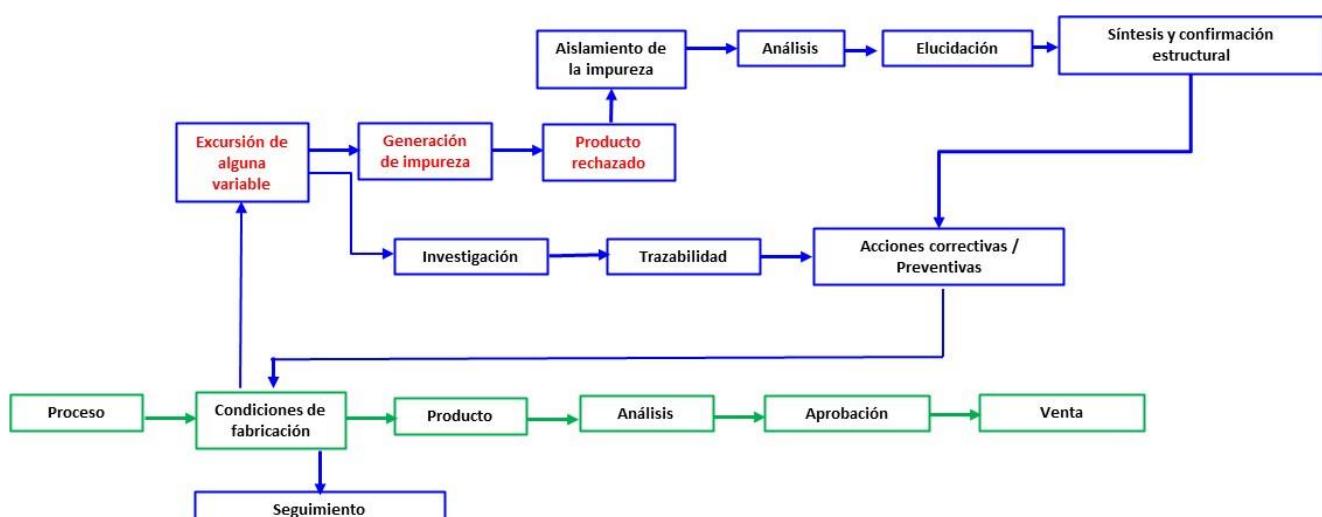


Figura 5. Metodología de aislamiento elucidación de impureza y corrección de proceso

3.1. Cuantificación de la impureza

La cuantificación de todas las impurezas presentes en un lote de producto es de capital importancia ya que en función de las cantidades presentes se puede considerar una problemática o no. En general las impurezas están limitadas a un contenido de 0.10% para las impurezas desconocidas y de 0.15% para las impurezas conocidas. En caso de que sea una impureza genotóxica los niveles de aceptación son diferentes y no está contemplada en esta aproximación [17]. Los límites antes mencionados son el baremo para decidir si una impureza se convierte en un problema. Además, es necesario remarcar que no todas las impurezas pueden elucidarse, ya que implica una inversión de recursos materiales y personal muy importante. **Por lo tanto, únicamente valores de impurezas desconocidas superiores a 0.10% deberían ser aisladas e identificadas.**

Otro factor muy importante es el factor de respuesta, que está definido como la proporción entre la señal producida por la impureza sobre la señal producida por la sustancia activa bajo las mismas condiciones de detección. El factor de respuesta está determinado por el análisis de los estándares y son usados para calcular la concentración de analitos en muestras. $RF = (\text{Respuesta de la impureza}/\text{Respuesta de la sustancia activa o intermedio})$ [18]. Evidentemente, para hacer esto se necesita aislar la impureza la cual por el momento es desconocida, está es una razón más para realizar el aislamiento. El factor de respuesta tiene una implicación directa sobre la cantidad real de un subproducto en un lote de sustancia activa. Por ejemplo, una impureza que en una primera aproximación se cuantifica en un 0.15% y si tiene un factor de respuesta de 0.3, entonces el valor real de la impureza es de $0.15\% \times 0.3 = 0.045\%$. Este valor no tendría impacto en el perfil de impurezas del lote y por lo tanto no sería objeto de rechazo.

Es necesario tener en mente que valores superiores a 0.10% de impurezas desconocidas en el producto final harían rechazar el lote mientras que en intermedios el valor límite dependerá de cómo se purifica la impureza a lo largo de la síntesis (capacidad de purga de la impureza).

Hasta este punto se han establecido límites, en la etapa siguiente es necesario determinar de origen de la impureza.

3.2. Trazabilidad

Una definición de trazabilidad es la siguiente: es un sistema designado para seguir el flujo de un producto o los atributos de un producto a través de un proceso productivo o una cadena de suministro [19]. En este contexto, trazabilidad es hacer un seguimiento de todo el proceso para conocer el origen de la impureza. Es decir, necesitamos encontrar el momento y el proceso donde se creó. Para llevar a cabo esta actividad se tiene que realizar una minuciosa investigación, por ejemplo, si se tiene una ruta sintética de 3 pasos y la impureza se observó en la etapa 1 es mandatorio saber que pasó en la etapa 1 y que dio origen a este subproducto.

El siguiente ejemplo clarificara lo antes expuesto. Durante la fabricación de un intermedio, una impureza es detectada en el tercer paso de la síntesis. Esto quiere decir que se debe buscar un compuesto que normalmente no se encuentre en el perfil de impurezas y que pueda haber reaccionado en la etapa sintética previa. Habitualmente esta acción se hace de la etapa sintética detectada hacia atrás. Por ejemplo, en el esquema 2 se muestra el perfil de impurezas normal para tres pasos de síntesis. En la figura **a** hay un compuesto diferente (impureza desconocida X-3). En la figura **b** se puede ver que también está presente (impureza desconocida X-2), nótese que en el perfil normal no se detecta este subproducto. Por lo que es necesario seguir al paso 1. En la figura **c** también está presente. Sólo queda pendiente revisar las materias primas. En la figura **d** se observa que el compuesto problema se encuentra en una materia prima. Es decir,

se observa un compuesto adicional a los perfiles de impurezas normales. En general, la impureza está desde el inicio de la síntesis y evoluciona conforme se avanza en la misma. En este caso concreto, con objeto de descartar la hipótesis de que las impurezas sean materias primas remanentes se inyectan patrones de estas en una muestra que tenga un perfil normal. Como conclusión de este estudio se tiene lo siguiente:

- La impureza tiene grupos funcionales susceptibles de reaccionar con los reactivos de las etapas sintéticas.
- La impureza viene de una materia prima

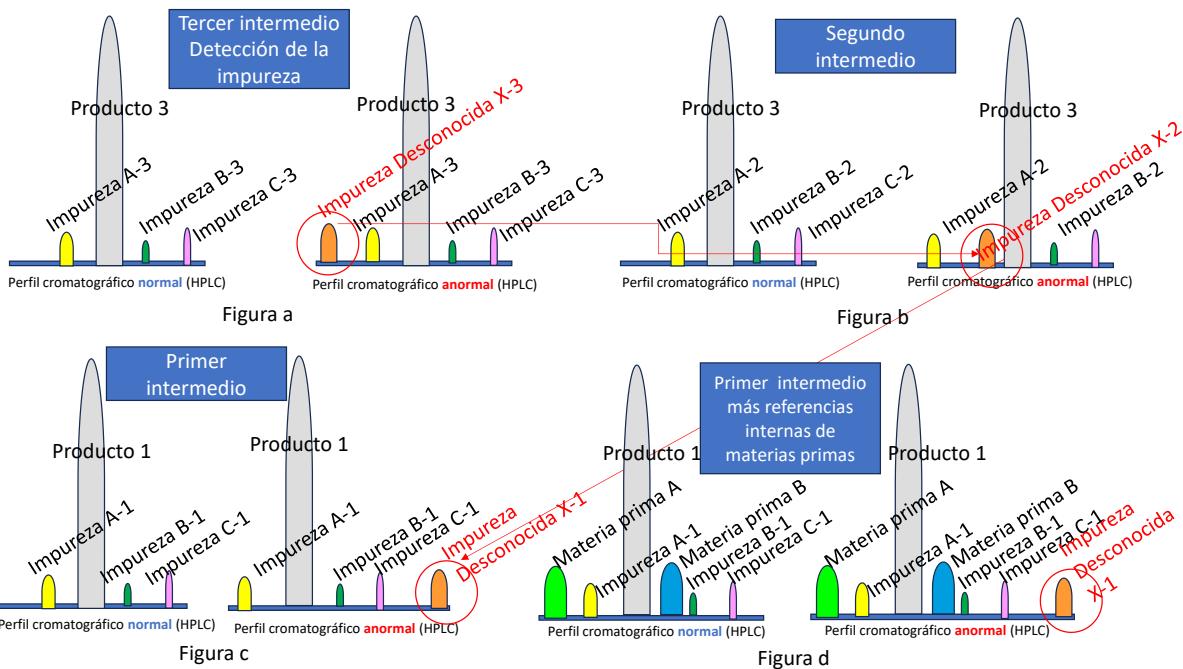


Figura 6. Ejemplo de trazabilidad de las impurezas (Origen)

Otra razón de gran peso es que la trazabilidad acotará la investigación a una etapa en concreto lo que permitirá optimizar los recursos destinados a esta tarea.

Este comparativo se puede efectuar con otras metodologías analíticas como resonancia magnética nuclear, infrarrojo o espectrometría de masas, etc. La cromatografía líquida de alta resolución suele ser el análisis más común en la industria farmoquímica/farmacéutica en cuanto a cuantificación de impurezas se refiere.

3.3. Aislamiento

Una vez establecida la etapa de origen de la impureza, en ocasiones es necesario aislarla para poder elucidar la estructura, corregir el error y continuar con la fabricación. De hecho, una metodología ampliamente usada es la del aislamiento fuera de línea. Esto consiste en aislar la impureza ya sea de la muestra de reacción, de las aguas madres, del producto aislado o por muestras expuestas a condiciones de degradación. Una vez aislada se utilizan métodos espectroscópicos para elucidar la impureza [20].

Diferentes aproximaciones se pueden utilizar. Las principales son: purificación en columna cromatográfica, separación en placas de separación por cromatografía, extracción-líquido / sólido, extracción líquido-líquido [21], cromatografía líquida y de gases. Alternativamente, nuevas metodologías han sido desarrolladas con el objetivo de separar un compuesto de una mezcla compleja (métodos hifénados). En este contexto, Rahman *et al.* reportaron la

siguiente metodología en un árbol de decisiones. Primero separan de manera preliminar la impureza. Se compara con muestras de proceso. Puede ser una impureza de proceso la cual ya está identificada. Por otro lado, si no concuerda, se debe emplear una técnica de separación más sofisticada aunado a una técnica hifenada. Si los datos son suficientes se procede a elucidar la estructura. Si no se puede, se debe utilizar adicionalmente resonancia magnética nuclear acoplada a cromatografía líquida de alta resolución [22]. Esto generará una propuesta de estructura la cual deberá ser corroborada por síntesis en laboratorio.

El objetivo primordial de esta etapa se centra en obtener muestras reales de la impureza para poder hacer la caracterización espectroscópica y proponer una estructura química. Esta estructura deberá estar sustentada por una hipótesis de la generación mediante la investigación realizada en paralelo.

3.4. Análisis

Una vez aislada la impureza es necesario ejecutar una serie de análisis con el objetivo de determinar todas las características fisicoquímicas y espectroscópicas para brindar la mayor información posible y tratar de determinar la estructura de la impureza. En los principios activos e intermedios fabricados bajo un sistema de calidad bien establecido, las materias primas, así como los intermedios conocidos están analizados, su estructura es conocida y servirán de referencia para poder saber qué tipo de impureza está contaminando el producto. En la tabla 1 se menciona el tipo de análisis y la información que brinda cada tipo de análisis acerca de la molécula. Por ejemplo, que grupos funcionales posee (infrarrojo), en qué estado sólido se encuentra, es decir como compuesto libre, como una sal orgánica, o es un solvato o un polimorfo (Rayos X de polvo). Que conectividad hay entre los grupos funcionales o el número de carbonos que tiene la estructura (resonancia magnética nuclear) o la masa molecular de la estructura (espectroscopía de masas). El valor del Karl Fisher indica cuánta agua hay presente en la estructura. La valoración indica la cantidad de producto se tiene en el intermedio o principio activo esto basándose en el tipo de valoración que se tenga (ácido-base, redox, etc.). La pérdida por secado muestra cuánto disolvente residual se tiene en el producto. Y las impurezas elementales brindan la información asociada a compuestos metálicos (por ejemplo, contenido de paladio, rodio, metales pesados, etc.) [23]. El resultado conjunto brinda los datos analíticos necesarios para determinar la estructura.

Tabla 1. Tipos de análisis e información que brindan

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Cantidad de la impureza presente en un lote de producto
Espectroscopía de masas (EM)	Peso molecular de la impureza. Patrones de fragmentación
Difracción Rayos X (RX)	Determinación de la forma sólida de la impureza (solvato, hidrato, polimorfo, sal orgánica farmacéutica, etc.).
Espectroscopía infrarroja (IR)	Grupos funcionales presentes en la molécula problema
Resonancia magnética nuclear (RMN)	Conectividad de los grupos funcionales de las moléculas por RMN H ¹ y RMN C ¹³
Cromatografía de gases (CG)	Determinación de compuestos volátiles y disolventes residuales
Valoración (val)	Determinación de la cantidad de base libre disponible
Karl Fisher (KF)	Determinación del contenido de agua
Perdida por secado (LOD)	Determinación de disolventes residuales
Impurezas elementales (EI)	Tipo y cantidad de metales en el producto

3.5. Desarrollo de metodologías analíticas

La necesidad de desarrollar nuevas tecnologías que cubran los requerimientos para elucidar matrices cada vez más complicadas ha derivado en la innovación tecnológica, tal es el caso de las técnicas hifenadas que han brindado la oportunidad de purificar e identificar compuestos provenientes de matrices complejas. Las técnicas hifenadas son la combinación de una técnica de separación unida a una técnica de detección en el mismo equipo. Estas técnicas sirven para el análisis cualitativo y cuantitativo de mezclas complejas con un mínimo de preparación [24]. Como se mencionó previamente la hifenación usa una técnica de separación usualmente cromatografía líquida (HPLC) o de gases (CG), electroforesis capilar (EC) unida a una técnica de detección tales como: arreglo de fotodiodos (PDA), resonancia magnética nuclear (RMN), infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) espectroscopia de masas (MS). Esto ha generado nuevas metodologías LC-PAD, o LC-FTIR, GC o LC-NMR, GC o LC-MS. Incluso hay combinación de tres técnicas analíticas. Adicionalmente, otras metodologías se han reportado recientemente [25], tales es el caso de: UHPL que es cromatografía líquida de ultra alto rendimiento, HPLC-MS-NMR: Cromatografía líquida de alta resolución-resonancia magnética nuclear y HPLC-MS-MS-NMR: Cromatografía de alta resolución acoplada a Espectroscopia de masas y resonancia magnética nuclear. En cuanto a metodologías se refiere, Dhaggar *et al.* reportan en su compilación referencias para aproximadamente 65 métodos para determinación de impurezas en sustancias activas (33 para HPLC, 5 para cromatografía de gases, 5 por ultravioleta, 9 por electroforesis capilar y 13 por métodos hifenados) [26].

Con la adecuada metodología se puede determinar la estructura de un compuesto químico, por lo que el siguiente párrafo se enfocara en la síntesis y elucidación.

4. ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL Y SÍNTESIS

Los datos obtenidos en la etapa de análisis se deben revisar para discernir qué tipo de impureza es la causante de la problemática. Es como un rompecabezas que se debe ir complementado poco a poco. Es importante destacar que nunca se parte de cero, ya que las materias primas (cuando se trabaja bajo las buenas prácticas de fabricación) deberían estar caracterizadas. Tomando esto como base, se puede empezar a construir el rompecabezas.

Tal como se comentó en la etapa precedente es necesario tener bien caracterizadas las materias primas y se debe familiarizar con los espectros, reportes, gráficas, etc., obtenidas de la etapa de análisis. Esto con la finalidad de poder determinar cambios que en ocasiones son casi imperceptibles en la analítica realizada. Una vez elucidada la estructura es necesario realizar la síntesis de la molécula para confirmar definitivamente la estructura de la impureza. En muchas ocasiones la síntesis de las impurezas se puede llevar a cabo utilizando el mismo procedimiento de obtención de los intermedios o forma farmacéutica haciendo pequeñas variaciones, por ejemplo, estresando la molécula en cuestión por aumento de la temperatura, presión, tiempo de reacción, disminuyendo la concentración, etc. En otras ocasiones es necesario desarrollar una metodología diferente para preparar los subproductos. En todo caso es necesario corroborar que “se cazó la impureza”. En los siguientes párrafos se expondrán diversos casos de estudio teóricos, se comentarán las investigaciones y medidas correctivas preventivas. Se complementará el caso con ejemplos similares descritos en la literatura, para detalles específicos se sugiere consultar la referencia correspondiente.

5. CASOS DE ESTUDIO

Los ejemplos son supuestas impurezas provenientes de los procesos de manufactura debido a excusiones, fallos operativos o de personal. En la descripción se incluirán preguntas para situar al lector, después de aislarlas y analizarlas se evalúan los datos obtenidos y se plantea un posible tipo de impureza, así como una medida de control. El ejemplo es reforzado con un caso similar descrito en la literatura.

5.1. Caso 1: Impureza proveniente de la materia prima

Durante el proceso de fabricación del tercer intermedio (¿dónde?) de una sustancia activa, se observa una impureza en un porcentaje de 0.2% (¿cuánto?) en el cromatograma de HPLC que se tomó para un control de proceso. Dicha impureza se monitorea durante todo el proceso. El contenido de esta impureza se mantiene constante durante la centrifugación (se toma muestra y se analiza). La misma proporción se mantiene durante el secado y finalmente permanece igual en el producto aislado. La impureza se aísla por cromatografía en columna de gel de sílice (¿cómo se purificó?), se analiza generando los siguientes resultados (Tabla 2).

Tabla 2. Datos analíticos obtenidos para el caso 1

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Tiempo de retención diferente pero muy cercano al producto
Espectroscopía de masas	Peso molecular de la impureza ligeramente diferente variabilidad de 15 unidades
Difracción Rayos X	Mínimas diferencias en la forma cristalina
Espectroscopía infrarroja	Mismos grupos funcionales
Resonancia magnética nuclear	Multiplicidad de las moléculas por RMN H¹ diferente multiplicidad (aparentemente una señal que integra para 3 H). RMN C¹³(1 carbón adicional).
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales igual al producto

La cromatografía de alta resolución separa la impureza en un tiempo de retención muy similar al del componente principal. Por otra parte, la espectroscopía infrarroja es prácticamente idéntica. Con respecto a la resonancia magnética nuclear hay diferente multiplicidad, aparentemente una señal que integra para 3 protones adicionales y la de C13 muestra un carbono adicional. El análisis que guía la investigación es la espectroscopía de masas que indica una diferencia de masas de 15 unidades lo que se corrobora con el metilo adicional detectado en la RMN.

Después del análisis, se determina que la impureza tiene un metilo adicional en la estructura, posee el mismo factor de respuesta ya que no posee grupos cromóforos adicionales. La misma forma cristalina indica que se trata de una molécula muy similar a la molécula deseada. La diferente multiplicidad en resonancia magnética nuclear indica que hay un metilo adicional. La estructura revela que se observan 15 unidades más en el espectro de masas equivalente a un CH₃ (metilo). Después de hacer el seguimiento se determina que la impureza proviene de una de las materias primas y que posee un metilo adicional. La trazabilidad indica que se observa una señal adicional en una de las materias primas.

Con esto se concluye que la impureza proviene de la materia prima, la cual no se había detectado (¿qué pasó?). Para establecer un método de control, se debe limitar esta impureza

en la especificación de las materias primas ya que al tener una estructura muy similar al producto es difícil eliminarla a través de la síntesis.

Ejemplo de este tipo de impureza se observó para el Olmesartan Medoxomilo (antihipertensivo), el derivado etilo se observó durante la síntesis del ingrediente activo se determinó que el producto provino de la contaminación por una materia prima análoga, en concreto Clo-
ruro de **etil** magnesio en lugar de Cloruro de **metil** magnesio (figura 7) [27]. Este tipo de impurezas debe limitarse desde los materiales de partida ya que al poseer los mismos grupos funcionales no se purifica durante las etapas de fabricación (limitada capacidad de purga). Una regla empírica es que entre más similitud estructural entre la impureza y la sustancia activa es más difícil de purificar. Es decir, en este caso el proceso de purificación estándar difícilmente eliminará un etilo de un metilo.

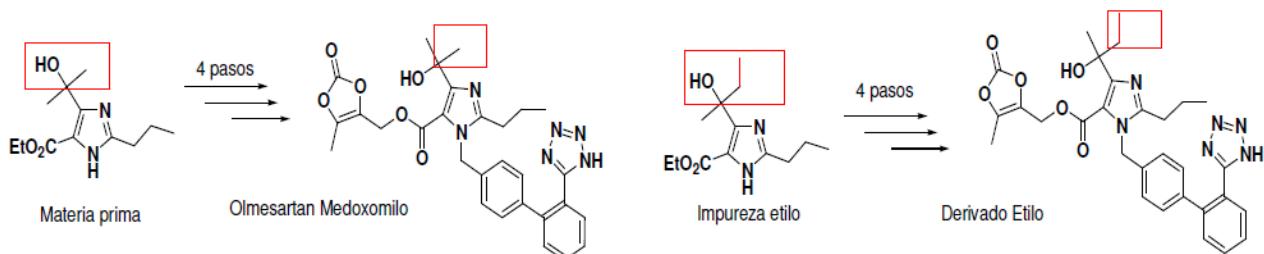


Figura 7. Ejemplo de impurezas por materiales de inicio

5.2. Caso 2: Impureza dimérica

Durante la etapa de carga de un intermedio en el cuarto paso sintético (*¿dónde?*) hubo una falla eléctrica, la cual se mantuvo durante dos horas. Esto hizo que el agitador del reactor se detuviera con los disolventes, reactivos y el intermedio. Al reiniciar el proceso se observó que el producto solidificó en el interior del reactor, así que tuvo un comportamiento anómalo. Es decir, no se disolvió rápidamente si no que tardó un par de horas adicionales para disolverse (*¿qué pasó?*). Esto hizo que al inicio las concentraciones de reactantes y reactivos fueran altas, lo que favoreció la generación de una impureza la cual se encontró en un contenido de 0.65% (*¿cuánto?*). Una vez aislado el intermedio, el subproducto se separó mediante concentración de las aguas madres y posterior purificación en placa preparativa (*¿cómo se purificó?*) obteniéndose los siguientes resultados: (Tabla 3).

Tabla 3. Datos analíticos obtenidos para el caso 2.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Tiempo de retención diferente indicando un compuesto apolar. Tiempo de retención mayor al compuesto principal y que eluye casi al final en un sistema de fase inversa.
Espectroscopia de masas	Peso molecular de la impureza aproximadamente del doble del producto
Difracción Rayos X	Diferencias mínimas en la forma cristalina
Espectroscopia infrarroja	Los grupos funcionales se observan de forma más intensa en la misma concentración
Resonancia magnética nuclear	Multiplicidad de las moléculas por RMN H ¹ se observa la misma multiplicidad, pero diferente integración (las señales integran para el doble de H). RMN C ¹³ : Se observan el doble de carbones
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales igual al producto
Factor de respuesta	Doble del producto
Karl Fischer	Igual que el producto

El tiempo de retención de la impureza indica un compuesto apolar, la elución en un sistema de fase inversa casi al final del análisis indica que el producto como ya se sabe tiene un peso molecular alto. El peso molecular es muy importante ya que en este caso es del doble del producto este dato se obtuvo por cromatografía de masas, la propuesta de este tipo de impureza es corroborada por la doble integración de las señales en resonancia magnética de protón y carbono 13. El factor de respuesta incrementado (doble) indica la presencia del doble de grupos funcionales. Concerniendo los rayos X de polvos, estos indican una molécula muy parecida al producto. Con base en los resultados se concluye que se trata de un dímero de la molécula final.

Teniendo en cuenta el tipo de problemática que originó el problema en la cual se mantuvieron altas concentraciones de materias primas se propone que la impureza es un dímero. Los dímeros, trímeros, etc., son de las impurezas más comunes en la síntesis de sustancia activas y habitualmente aparecen cuando las concentraciones de reactivos se incrementan.

Un ejemplo reportado en la literatura asociado a un intermedio en la síntesis del Elitriptano (analgésico) muestra la impureza dimérica que tiene aproximadamente el doble del peso molecular del intermedio [28]. Las impurezas diméricas, triméricas, etc., se obtienen debido a la presencia de grupos funcionales múltiples. Esta característica asociada a altas concentraciones durante la etapa de reacción debido a que se detuvo la agitación durante el proceso derivó en la generación de una impureza. Se pueden establecer medidas de control por ejemplo aumentando la dilución de la reacción, adicionando los reactivos lentamente o haciendo menos drásticas las condiciones de reacción. En el caso concreto de una falla eléctrica, la potencial medida para controlarla es incluyendo una planta de emergencia que pueda mitigar este problema (medidas de control).

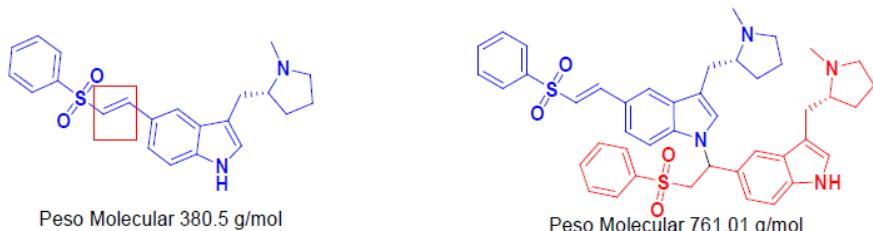


Figura 8. Ejemplo de impureza dimérica

5.3. Caso 3: Dihidrato

Durante el secado de un clorhidrato de principio activo de una ruta sintética de 5 pasos (¿dónde?), se observó un comportamiento anómalo con la eliminación de disolvente residual en el producto. Habitualmente el producto se seca en 12 horas, sin embargo, después de 26 h se observa un contenido de agua más alto del habitual y el mismo se mantuvo invariable durante 24 horas adicionales. Datos importantes de la síntesis son: el disolvente de aislamiento es isopropanol, ya que el producto es un clorhidrato soluble en agua y el aislamiento es mediante el uso de cloruro de hidrógeno en isopropanol. Otro dato relevante es que el intermedio a fabricar es un monohidrato. Por lo tanto, es un clorhidrato con una molécula de agua integrada a la estructura.

En vista de los resultados se decide enfriar el producto descargarlo y analizarlo. Se observan los siguientes datos analíticos (Tabla 4).

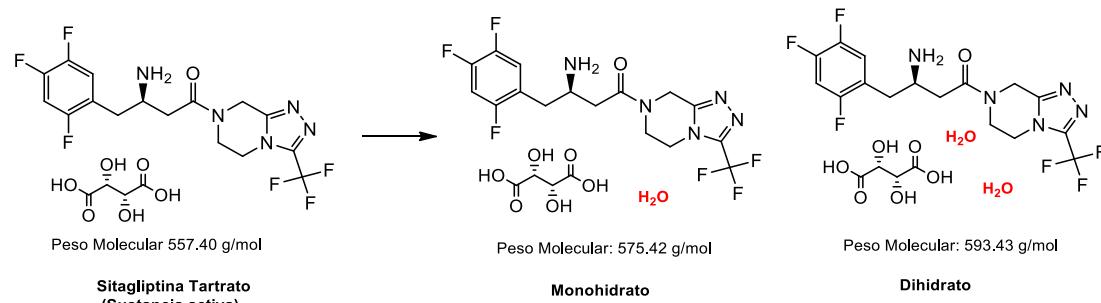
Tabla 4. Datos analíticos obtenidos para el caso 3.

Ánálisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Mismo tiempo de retención. La impureza no se detecta por CLAR
Espectroscopia de masas	Misma masa molecular
Difracción Rayos X	Diferencias en la forma cristalina
Espectroscopia infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Misma multiplicidad que el producto
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales igual al producto
Factor de respuesta	Mismo que el producto
Karl Fischer	Se observa el equivalente a dos moléculas de agua en KF. Aun después de secar exhaustivamente la muestra

El primer análisis que se ejecuta es el Karl Fisher, el porcentaje de agua que se obtiene es el equivalente a dos moléculas de agua, en este caso la impureza es agua por lo tanto no es necesario aislar la impureza. En cuanto a las cromatografías, ni la CLAR, la RMN o la CG logran detectar diferencias en el producto. El patrón diferente en la forma cristalina indica que no es la misma sustancia, esto se corrobora con las dos moléculas de agua detectadas por la metodología de Karl Fischer. Y se ratifica por la diferente funcionalidad del espectro infrarrojo. La pérdida por secado aun en condiciones exhaustivas indica que es un compuesto estable. Básicamente, la impureza es un dihidrato del producto de referencia.

Durante la investigación se detectó que el operario por error cargó el doble de agua durante la cristalización. Tenía que cargar 24 litros de agua al proceso, pero la válvula del agua se rompió y en total cargó 48 litros. En esta etapa el agua es un reactivo limitante y el principio activo tiende a hacer polihidratos. Como medida preventiva se pueden establecer condiciones anhidras en los equipos de fabricación o en su defecto si la molécula deseada fuera un monohidrato, se debe controlar de manera estequiométrica la cantidad de agua que se introduce en el último paso de la síntesis, se podría pesar exactamente la cantidad de agua a cargar. Adicionalmente, este paso de síntesis debe ser verificado con una doble revisión en el documento de fabricación (batch record).

Para ejemplificar este caso, recientemente se reportaron diversos hidratos y polimorfos para la Sitagliptina Tartrato (antihiperglucemiant). En este trabajo expresamente se prepararon varios hidratos utilizando la respectiva sal de Tartrato en combinación con diferentes disolventes incluyendo agua. La estructura se determinó mediante varias técnicas (calorimetría por escaneo diferencial, termogravimetría, rayos x de polvos y absorción dinámica de vapor). También se estudiaron las propiedades de hidratación y deshidratación de la molécula, en este ejemplo expresamente se buscó la formación de hidratos no obstante esta metodología también sirve de referencia en el caso presentado [29].

**Figura 9.** Ejemplo de impureza generada por el agua

5.4. Caso 4: Polimorfismo

Durante la cristalización final de una sustancia activa (¿dónde?), específicamente en la rampa de enfriamiento de 78 a 0 °C se observó un incremento de la temperatura de cristalización, en lugar de precipitar entre 50 °C a 60 °C en alrededor de 10 minutos. El producto precipitó abruptamente a los 63 °C. Esta observación infiere directamente que se pudo obtener otra forma sólida diferente de la esperada. El producto fue aislado por centrifugación y posterior secado. Después de analizarlo se obtuvieron los siguientes datos (Tabla 5):

Tabla 5. Datos analíticos obtenidos para el caso 4.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Mismo tiempo de retención. La impureza no se detecta por CLAR
Espectroscopia de masas	Misma masa molecular
Difracción Rayos X	Diferente
Espectroscopia infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Mismo desplazamiento y multiplicidad
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales orgánicos igual al producto
Factor de respuesta	Mismo que el producto
Karl Fischer	Mismo que el producto
Punto de fusión	Diferente comportamiento por DSC

En cromatografía líquida de alta resolución no se observan diferencias ya que la impureza tiene el mismo tiempo de retención. Concerniente al ion molecular se observa la misma masa. La difracción de rayos X indica que se obtiene un nuevo patrón y la evaluación concluye que todo el producto tiene esta nueva forma sólida (¿cuánto?). Esto se confirma con la espectroscopia de infrarrojo en la cual se obtiene un cromatograma diferente.

El DSC exhibe diferentes comportamientos térmicos esto indica que es un nuevo polimorfo. La investigación arrojó que durante el calentamiento el operario incluyó la consigna para utilizar todo el calor disponible (120 °C) esto hizo que el producto estuviera sometido a una alta temperatura por aproximadamente 90 minutos, esta alta temperatura generó evaporación de disolvente y a su vez puntos de crecimiento de cristales con otra forma sólida. Cuando se realizó la rampa de enfriamiento el producto cristalizó de una forma diferente. La medida de control fue establecer una consigna de calentamiento menos drástica, esto se modificó en el documento de fabricación incluyendo una doble verificación.

El caso reportado en la literatura es el Ritonavir (antiviral) [30]. El Ritonavir se descubrió en 1992, posteriormente en 1995 se hizo la aplicación ante la FDA. La fabricación a nivel comercial empezó en 1996. Este producto fue comercializado como una cápsula semisólida. En 1998 se observó que varios lotes de la forma farmacéutica fallaron la prueba de disolución ya que la sustancia activa se precipitó en ellas. Para determinar las diferentes formas sólidas se hicieron pruebas de cristalización. La forma I que era la conocida se disolvió en etanol a 40 °C, la disolución se filtró en caliente a un recipiente contenido cristales de la forma II aisladas de las capsulas semisólidas. Al contacto de la solución saturada con los cristales de la forma II se observó precipitación inmediata. Esta solución se enfrió a 25 °C y mantuvo toda la noche. Los cristales formados después de filtrarlos presentaron la forma II. A las aguas madres sin precipitar se les evaporó el disolvente y presentaron la forma I.

Una alternativa para el control de las impurezas polimórficas en las sustancias activas es utilizar una siembra. Una siembra es una porción de sustancia activa que contiene la información necesaria para obtener el polimorfo deseado. Un ejemplo acerca del uso de una siembra en el Palbociclib (anticancerígeno) se reportó por Chekal *et al.* [31].

5.5. Caso 5: Formación de sal orgánica o aducto de Michael

En la etapa de análisis de una forma farmacéutica en la cual se utilizó almidón pregelatinizado como excipiente y una sal orgánica de un principio activo se observó la formación de una impureza en un porcentaje de 0,4% (¿cuánto?). En este caso la impureza fue aislada por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de masas. La impureza fue caracterizada brindando los siguientes datos (Tabla 6).

Tabla 6. Datos analíticos obtenidos para el caso 5.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Diferente tiempo de retención.
Espectroscopía de masas	Diferente masa molecular. Masa + peso molecular del contraión
Difracción Rayos X	Diferente
Espectroscopía infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Pequeñas diferencias con el producto que coinciden con el contraión
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales igual al producto
Factor de respuesta	Mismo que el producto
Karl Fischer	Mismo que el producto
Perdida por secado	Misma que el producto de referencia.

La investigación indicó que la impureza se formó en la etapa de manufactura de la forma farmacéutica (¿dónde?). Por lo tanto, se puede inferir un par de situaciones:

- la sustancia activa reaccionó con un excipiente
- alguna sustancia contenida en el excipiente propició la formación de la impureza

En lo que respecta a los datos analíticos la cromatografía líquida indicó que se trata de otra molécula. El peso molecular diferente es un indicativo de que la impureza podría provenir de la formación de una reacción. En este caso se tiene la sal orgánica de un principio activo el cual se divide en: principio activo y contraión. Adicionalmente se tiene el excipiente que es almidón pregelatinizado. Curiosamente el ion molecular es la sumatoria del peso molecular de la sustancia activa más el peso del contraión. Es necesario tener en mente que la masa molecular de la sustancia activa es por una parte la de la base libre y en segundo lugar el del contraión. Por lo tanto, se infiere que de alguna manera la sustancia activa y el contraión reaccionaron para generar un subproducto. El espectro de infrarrojo corrobora una estructura diferente. En la RMN de protón se observan protones que corresponden al producto de adición del contraión en la sustancia activa (adición de Michael). El espectro de RX también corrobora que la impureza no corresponde a la sustancia activa. Los otros análisis permanecen sin cambios respecto al producto de referencia.

Este caso corresponde a la obtención de una impureza presente durante la preparación de una forma farmacéutica de Maleato de Seproxetina (inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina). En la fabricación se utilizó almidón pregelatinizado y mantenido a 25 / 40 °C. Después de analizar el caso se determinó que la presencia de esta impureza fue debido al agua presente en el almidón. El agua debió disolver restos básicos que cambiaron localmente el pH

lo suficiente para liberar la base libre y que la amina pudiera atacar en una reacción tipo Michael al ácido Málico (aceptor de Michael) [32]. El método para poder mitigar esta problemática es utilizar un almidón muy bajo en contenido de agua, esto podría establecerse en la especificación del almidón.

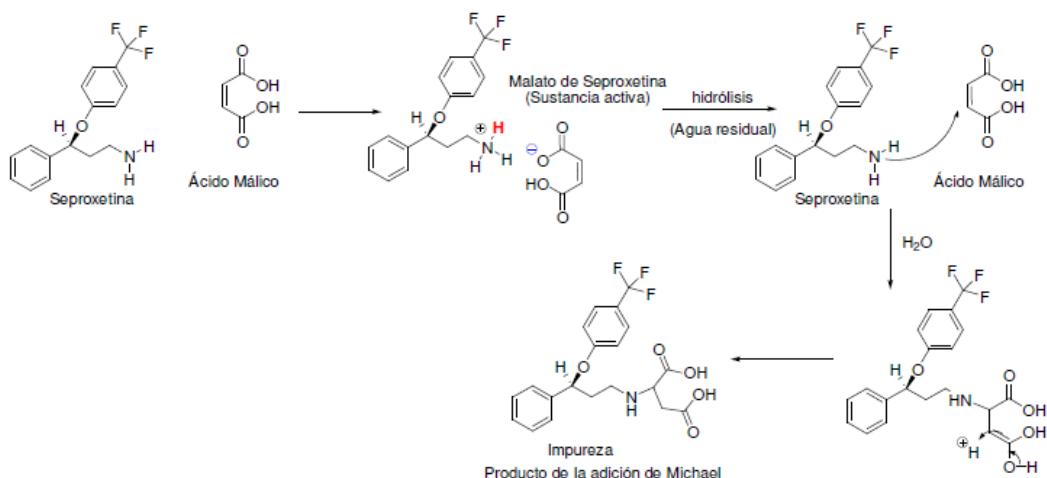


Figura 10. Impureza por reacción con el contraíón

5.6. Caso 6: Impureza por reordenamiento de enlaces

El siguiente caso es una impureza obtenida a partir de un reordenamiento de enlaces el caso es el siguiente. Durante un proceso de esterilización térmica para la preparación de la forma farmacéutica se observó la formación de una impureza en un lote de sustancia activa. En la esterilización se puso en contacto el principio activo y agua libre de pirógenos. Durante la operación la impureza precipitó espontáneamente después del proceso y fue aislada por filtración. Los análisis obtenidos fueron los siguientes (Tabla 7):

Tabla 7. Datos analíticos obtenidos para el caso 6.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Diferente tiempo de retención.
Espectroscopia de masas	Diferente masa molecular.
Difracción Rayos X	Diferente patrón de RX
Espectroscopia infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Diferente multiplicidad en RMN de H y C13. El carbón del ácido carboxílico cambió de desplazamiento a uno similar a una cetona.
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales igual al producto
Factor de respuesta	Mismo que el producto
pH (disolución)	Pasó de 7.94 a 10.89

Los análisis indican que se trata de un compuesto diferente a la sustancia activa. Ya que tanto la cromatografía líquida, la espectroscopia de masas, los rayos x de polvo, el infrarrojo y la resonancia magnética nuclear son diferentes a la molécula original. Los datos cruciales para tratar de conocer la estructura son:

- El cambio sucedió en condiciones térmicas (123 °C)
- Se observó generación de Hidróxido de sodio lo que hizo cambiar el pH de la disolución.

- La impureza precipitó espontáneamente
- La impureza generada tiene una estructura y propiedades espectroscópicas totalmente diferentes a la sustancia de partida (ingrediente activo).

Las condiciones térmicas y las diferencias en las propiedades espectroscópicas sugieren una estructura nueva, por lo que podría tratarse de un rearreglo estructural. En este contexto, existen varios programas disponibles para hacer modelos de las posibles estructuras que se pueden correlacionar con los datos obtenidos del análisis. Esta estructura resultó ser una molécula proveniente de un rearreglo intramolecular.

El caso descrito en la literatura corresponde al Diclofenaco sódico (antiinflamatorio no esteroideo). En pruebas de esterilización para una formulación de Diclofenaco Sódico se observó formación de opalescencia. Las condiciones extremas (123 ± 2 °C) jugaron un rol muy importante en la formación de la impureza. También se observó aumento del pH del medio pasando de 7.9 / 8.2 a 10.9 lo que indicó la generación de Hidróxido de sodio como subproducto. Se observó un ataque de la función amina sobre el grupo carbonilo de la molécula. El intermediario sufre una eliminación de hidróxido de sodio que dio origen a una Indolina. Los autores decidieron cambiar de metodología de esterilización proponiendo una filtración aséptica [33]. Un dato por retener de este caso es que cuando se utilizan condiciones drásticas es posible la formación de rearreglos inter o intramoleculares. De hecho, algunos compuestos químicos sufren rearreglos en su estructura si los grupos funcionales se ordenan adecuadamente. Probablemente este es uno de los casos más difíciles de elucidar no obstante algunos patrones de reordenamiento ya se han descrito previamente en la literatura [34].

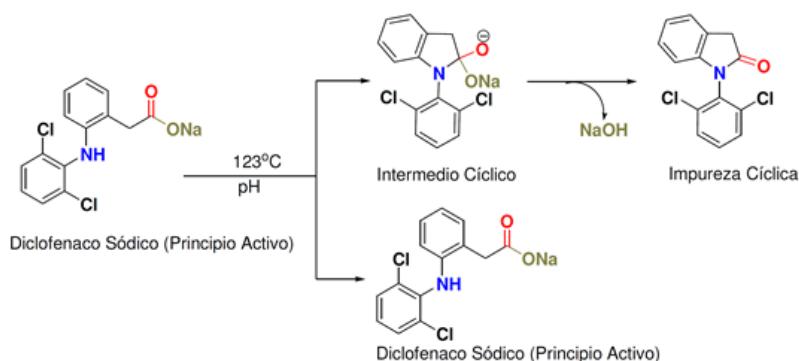


Figura 11. Impureza obtenida por el método de fabricación

5.7. Caso 7: Impureza metálica

Durante la síntesis del segundo intermedio de una sustancia activa en la cual se hizo una sustitución nucleófila se observó degradación, obteniéndose rendimientos muy bajos y un perfil de impurezas con varios subproductos adicionales, con un total de 5% de impurezas dividido en varias estructuras. Inicialmente se revisaron las condiciones de reacción, las cuales no arrojaron ninguna desviación del proceso. Cabe destacar que el intermedio precedente fue generado mediante una reacción de acoplamiento con Paladio. Puesto que no se encontró un problema determinado, se procedió a la fabricación de otro lote el cual sufrió el mismo destino. En vista de estos datos, se decidió hacer una repetición analítica y se hizo una evaluación exhaustiva de los datos (Tabla 8). Durante el análisis no se detectó anomalía alguna, por lo tanto y buscado una explicación plausible se determinó el contenido de paladio en el intermedio. Este parámetro se determina en el principio activo por tal motivo no se encuentra en la especificación del intermedio. El resultado fue de 800 PPM de este metal. Algunos lotes que se

tenían en la muestreoteca fueron analizados con el objeto de verificar si esto era un valor cotidiano. En esta tesitura se analizaron los últimos 7 lotes de la campaña y el resultado fue “no detecta”. Por lo tanto, la causa probable de esta problemática fue el contenido de paladio. Con respecto al intermedio este fue tratado con un secuestrador de paladio y enseguida cristalizado. El intermedio se utilizó en la síntesis habitual dando buenos resultados. Durante la investigación se detectó que uno de los papeles del filtro lenticular utilizado, tenía un pequeño poro por el cual pudo haber pasado un poco de metal residual. La medida de contención fue poner un filtro de pulido al final de la línea de filtración, esta acción evitará que haya paladio que pase a través del sistema de filtración. Por otra parte, el Paladio es un metal pesado que se debe controlar en los intermedios y en las sustancias activas, consecuentemente otra medida de control es realizar el análisis en el intermedio que tuvo el problema.

Tabla 8. Datos analíticos obtenidos para el caso 7.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Mismo tiempo de retención.
Espectroscopia de masas	Misma masa molecular.
Difracción Rayos X	Mismo patrón de RX
Espectroscopia infrarroja	Mismo espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Misma multiplicidad en RMN de H y C13.
Cromatografía de gases	Perfil de disolventes residuales igual al producto
Factor de respuesta	Mismo que el producto
Karl Fischer	Mismo que el producto
Contenido de metales (ICP)	Alto contenido de Paladio

Caso reportado en la literatura. Recientemente se reportó el uso de secuestradores de Paladio para el Ceftolozano (antibiótico). La sal intermediaria contenía aproximadamente 50 PPM de Paladio, mientras que la concentración permitida en el principio activo final es de <1 PPM. Claramente, el objetivo fue reducir al mínimo la concentración de este compuesto. Durante el estudio se probaron diversos tipos de secuestradores. En la optimización se usaron diversos carbonos activados, polímeros sobre soporte sólido, derivados de Tioureas y finalmente derivados de Tiocarbonatos. Precisamente estos últimos demostraron ser muy efectivos en cuanto a la eliminación selectiva de Paladio. Igualmente se demostró la estabilidad en medio ácido (necesaria para sintetizar la sal final) y ser de muy bajo costo. Con esta metodología se obtuvieron niveles de paladio inferiores a 1 ppm [35]. Como medida preventiva, cuando se realicen este tipo de reacciones en la medida de lo posible se debe incluir la determinación de paladio en la especificación del intermedio con objeto de evitar contratiempos en la etapa final. En los ingredientes farmacéuticos las impurezas metálicas están estrechamente limitadas debido a que muchos de estos residuos metálicos son muy tóxicos. De hecho, la ICH3D clasifica los metales en 4 grupos y establece límites para estos compuestos. De estos metales el Paladio se ha destacado por la versatilidad de sus aplicaciones en la química de procesos. No obstante, la correcta eliminación de este es de crucial importancia. En este contexto varias metodologías de secuestradores de Paladio se han utilizado para la correcta eliminación de este metal. Dentro de las metodologías utilizadas se ha descrito: el uso de secuestradores especializados de paladio portando grupos Trimercaptotriazina, Etilendiamina, también carbón activo, otros tipos de soportes con grupos protectores especializados desarrollados por casas comerciales, *N*-acetilcisteína, tiourea, fosfinas, cisteína [36].

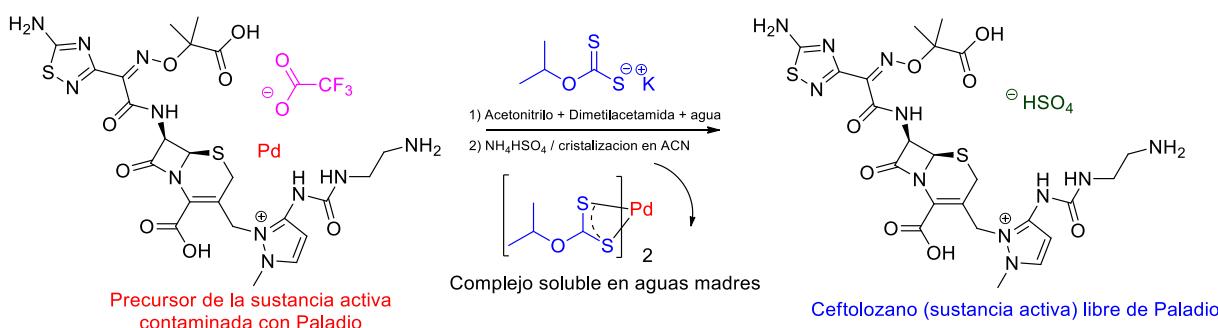


Figura 12. Impurezas residuales de metales pesados

5.8. Caso 8: Reacción del principio activo con el disolvente

Durante la cristalización final de una sustancia activa (¿dónde?), se llevó a reflujo la cristalización para lograr completa disolución. Durante el calentamiento el sistema de control se tuvo un fallo y mantuvo la temperatura a 32 °C durante 8 horas adicionales. Posteriormente el producto se cristalizó, se aisló mediante centrifugación y se secó. Una vez analizada se encontró una impureza en 0,8% (¿cuánto?). En ocasiones es en extremo difícil de determinar la estructura de los subproductos sobre todo si la estructura resultante es casi improbable de formarse. En este ejemplo los datos observados tras el análisis están reportados en la tabla siguiente.

Tabla 9. Datos analíticos obtenidos para el caso 8.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Diferente tiempo de retención.
Espectroscopia de masas	Diferencia de masa molecular de 84.93
Difracción Rayos X	Diferente
Espectroscopia infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Diferente multiplicidad en RMN de H y C13. Se observa un metíleno afectado por uno o dos heteroátomos
Cromatografía de gases	NA
Factor de respuesta	Mismo que el producto
Karl Fischer	Mismo que el producto
Perdida por secado	NA

Una vez compilados los datos se infiere que la molécula es diferente ya que la cromatografía líquida, el peso molecular, la difracción de RX y el infrarrojo es diferente. Esto se confirma con la diferente multiplicidad observada por resonancia de protón (H) y carbono 13 (C¹³). Por lo tanto, la impureza es una molécula diferente del producto principal. El proceso en el que se obtuvo la impureza fue una cristalización final. Siendo la molécula final únicamente cargada en el reactor. Las condiciones de reacción fueron 32 °C durante 2 horas y sin embargo este calentamiento se mantuvo por mucho más tiempo. Durante la investigación se detectó que las válvulas del reactor fallaron y el calentamiento se mantuvo por un total de 8 horas. Lo que lleva a suponer que el producto pudo haberse degradado o sufrido una reacción. Otra alternativa es que el producto reaccionó con el disolvente, aunque es muy poco probable es posible que suceda. Durante la investigación se determinó que un actuador de una de las válvulas estaba dañado, el actuador se cambió. También se determinó que estas válvulas no estaban en el programa de mantenimiento preventivo motivo por el cual se incluyeron, esta acción mitigaría la reincidencia.

En cuanto al caso práctico, durante la revisión de las impurezas de la Olanzapina (antipsicótico) reportada por Thatipalli *et al.* [37] se observó la impureza de interacción con el cloruro de metileno. La impureza se sintetizó para comprobar la estructura generando el compuesto en el cual se incorporó una molécula de cloruro de metileno (Figura 12). La lección aprendida que brinda este ejemplo es no dar por sentado nada, ya que hasta el disolvente bajo las condiciones apropiadas puede reaccionar con el principio activo.

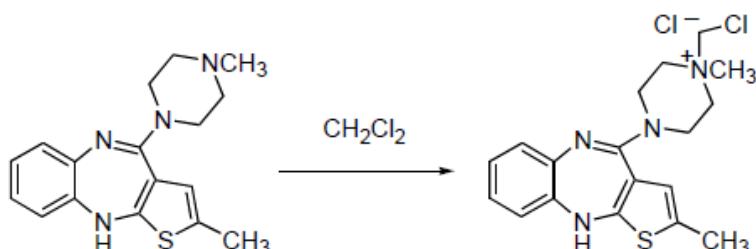


Figura 13. Impureza por reacción con el disolvente

5.9. Caso 9: Reacción del principio activo con el excipiente

Durante el desarrollo de una forma farmacéutica se utilizó óxido de magnesio a 55 °C para preparar tabletas (¿dónde?). Una vez las tabletas fueron fabricadas se determinó el contenido de la sustancia activa y se observó la formación de una impureza apolar de 2,3% con respecto a la sustancia activa de referencia. Tras aislar la impureza por cromatografía en columna en gel de sílice se obtuvieron los siguientes datos analíticos:

Tabla 10. Datos analíticos obtenidos para el caso 9.

Ánálisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Diferente tiempo de retención
Espectroscopía de masas	Diferencia de 2 veces la masa molecular más 24 unidades
Difracción Rayos X	Diferente
Espectroscopía infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Diferente multiplicidad en RMN de H y C ¹³ . Se observa integración para dos moléculas
Cromatografía de gases	No determinado
Factor de respuesta	Mitad del producto de referencia
Karl Fischer	Anhidro
Espectrometría de absorción atómica	Determinación de un átomo de magnesio

Los datos indican que la impureza tiene un tiempo de retención diferente al compuesto problema en cromatografía de líquidos. La espectroscopía de masas indica una masa de aproximadamente el doble de la molécula de referencia. La difracción de RX, indica que es una molécula totalmente diferente ya que las señales son completamente diferentes. Se tiene un espectro de infrarrojo diferente. Y la multiplicidad de RMN integra para dos moléculas de la sustancia activa. En la espectrometría de absorción atómica se observa un átomo de magnesio.

El dato crucial es el generado por la espectroscopía de masas que es dos veces la masa molecular más 24 unidades. Esto quiere decir que probablemente se obtuvo un dímero con "algo adicional". El factor de respuesta fue de aproximadamente 0,5% aun así la impureza

quedaría en 1,15% y sigue siendo un problema. El caso reportado en la literatura es el siguiente:

En un estudio de compatibilidad del Ibuprofeno con el óxido de magnesio, se observó una impureza la cual se analizó y se aisló. Durante los estudios entre la sustancia activa y el excipiente se observó una reacción sólido-sólido en mezclas 1:1 y 2:1 cuando se sometieron a 55 °C. La sal obtenida fue determinada mediante estudios calorimétricos y espectroscopía de infrarrojo y comprobada mediante síntesis en laboratorio. También se corroboró que el Ibuprofeno es susceptible a la reacción con otras sales (Bicarbonato de Potasio, Carbonato de Potasio, Hidróxido de Magnesio, etc.). Un dato muy interesante es la perdida de agua en la reacción ya que se observó un KF prácticamente anhidro. Esta es una reacción de formación de sal orgánica promovida por un excipiente, casi imposible de prever ya que se lleva a cabo en estado sólido. El dato clave es la presencia de Magnesio. El Magnesio al ser bivalente puede formar una sal con dos moléculas de Ibuprofeno. Es destacable el hecho de que la reacción de formación de sal se lleva a cabo en estado sólido promovido por la temperatura. Un método muy similar es el grindstone en el cual se ponen en contacto la sustancia activa y el contraión y la reacción sucede en ausencia de disolvente [38]. La medida de contención en este ejemplo es cambiar el excipiente o en su defecto hacer un barrido de temperaturas buscando las condiciones para que no reaccione el principio activo. La reacción entre el Ibuprofeno y el Óxido de Magnesio se describe en la Figura 14 [39].

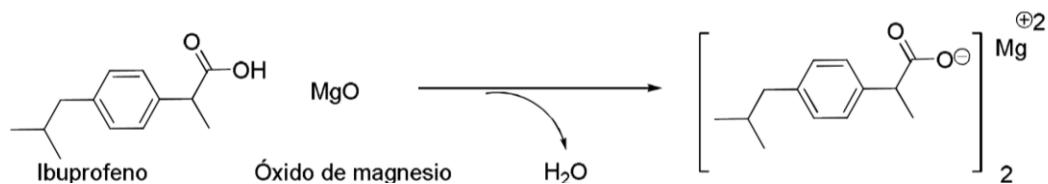


Figura 14: Impureza por reacción con el excipiente

5.10. Caso 10: Reacción del principio activo con el oxígeno catalizado por un excipiente

Durante el desarrollo de la formulación de una sal de sustancia activa se utilizó jarabe de cereza como vehículo. Durante el desarrollo se observaron la formación de varias impurezas en diversas proporciones. Un dato experimental muy importante es que las impurezas se incrementaron velozmente cuando la formulación se expuso a la luz ambiental y al oxígeno.

Tabla 11: Datos analíticos obtenidos para el caso 10.

Análisis	Información
Cromatografía líquida de alta resolución	Diferentes tiempos de retención
Espectroscopía de masas	Diferente (varias estructuras)
Difracción Rayos X	No determinado
Espectroscopía infrarroja	Diferente espectro de infrarrojo
Resonancia magnética nuclear	Diferente multiplicidad en RMN de H y C13. Se observa integración para dos moléculas
Cromatografía de gases	No determinado
Factor de respuesta	Mismo que el producto

En este caso la cromatografía líquida indicó varios compuestos totalmente diferentes, la espectroscopía de infrarrojo corroboró los resultados previos. Finalmente, la resonancia magnética nuclear también corroboró la presencia de diferentes moléculas. Este caso es fácil determinar que son moléculas diferentes, lo que no es tan sencillo es conocer las estructuras. El caso reportado en la literatura es asociado a una formulación de Losartan potásico (antihipertensivo) en el cual se utilizó jarabe de cereza como vehículo [40]. En las pruebas se observó la presencia de varias impurezas en la formulación. Se realizaron varios ensayos adicionales los cuales demostraron que la formulación estaba impactada por la luz y el oxígeno ambiental. Se demostró que el jarabe contenía un sensibilizador que promovió una reacción radicalaria con el oxígeno singulete. Este a su vez atacó la función imidazol del Losartan generando una imina que a su vez se derivó en varias degradaciones subsecuentes. Las impurezas fueron caracterizadas, aisladas y el tiempo de retención fue corroborado en cromatografía de alta resolución.

En este caso se pudieron acotar relativamente fácil las alternativas para determinar las impurezas. La sustancia activa se puso en contacto con el jarabe de cereza y crecieron las impurezas. Consecuentemente, el jarabe de cereza tenía “alguna sustancia” que degradó el Losartan. Mirando la molécula el Losartan tiene un anillo imidazol y un tetrazol. El más lábil resultó ser el imidazol. Por lo tanto, la investigación derivó en la hidrólisis del imidazol. La investigación llevó a la conclusión de que las estructuras coincidían con las moléculas de degradación de este grupo funcional. Finalmente, las impurezas observadas en este estudio se representan en la Figura 15.

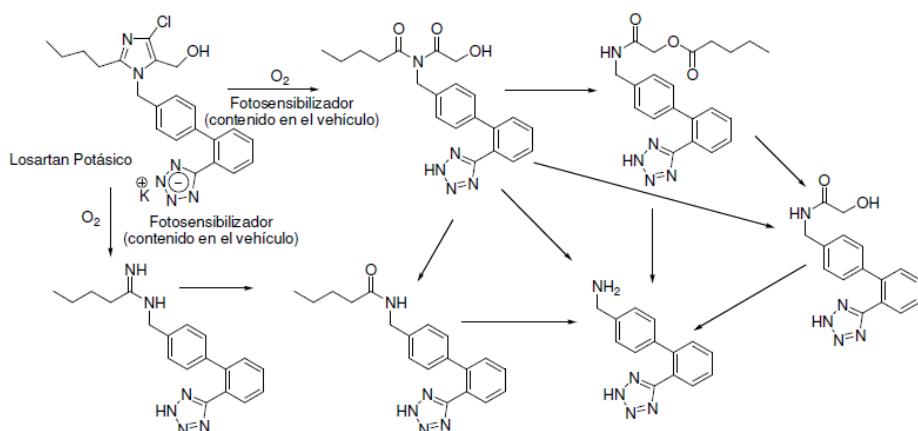


Figura 15. Impureza generada por una impureza del vehículo de la formulación

En la tabla 12 se observa una compilación de los casos comentados. La elucidación de una impureza depende de los datos espectroscópicos, pero también de la casuística de la obtención. Los casos se deben analizar muy bien para lograr tener un punto de partida. Por ejemplo, si se obtuvo una impureza en la cristalización final, podría tratarse de una reacción de la molécula final consigo misma o una posible interacción con el disolvente.

Tabla 12. Compilación de los casos presentados

	CLAR	Factor de respuesta	EM	DRX	IR	RMN	CG	Valoración	Karl Fischer	Pérdida por secado	OTRO	Tipo de impureza
1	RRT parecido	Igual que el producto	Peso molecular de la impureza ligeramente diferente variabilidad de 15 unidades	Mínimas diferencias en la forma cristalina	Mismos grupos funcionales	Multiplicidad de las moléculas por RMN H ¹ diferente multiplicidad (aparentemente una señal que integra para 3 H). RMN C ¹³ : 1 carbón adicional.	Misma	NA	NA	NA	NA	Proveniente de la materia prima
2	Tiempo de retención diferente indicando un compuesto apolar.	Doble del producto	Peso molecular de la impureza aproximadamente del doble del producto	Diferencias mínimas en la forma cristalina	Los grupos funcionales se observan de forma más intensa en la misma concentración	Multiplicidad de las moléculas por RMN H ¹ se observa la misma multiplicidad, pero diferente integración (las señales integran para el doble de H). RMN C ¹³ : Se observan el doble de carbonos	Misma	NA	NA	Mismo	NA	Dimérica
3	Mismo tiempo de retención. La impureza no se detecta por CLAR	Mismo que el producto	Misma masa molecular	Diferencias en la forma cristalina	Diferente espectro de infrarrojo	Misma multiplicidad que el producto	Misma	NA	Se observa el equivalente a dos moléculas de agua en KF. Aun después de secar exhaustivamente la muestra	Misma que el producto de referencia.	Diferente DSC	Impureza dihidrato
4	Mismo tiempo de retención. La impureza no se detecta por CLAR	Mismo que el producto	Misma masa molecular	Diferente	Diferente espectro de infrarrojo	Mismo desplazamiento y multiplicidad	Misma	NA	Mismo que el producto	Misma que el producto de referencia	NA	Polimórfica
5	Mismo tiempo de retención. La impureza no se detecta por CLAR	Mismo que el producto	Diferente masa molecular. Masa + peso molecular del contraión	Diferente	Diferente	Pequeñas diferencias con el producto que coinciden con el contraión	Misma	NA	Mismo que el producto	Misma que el producto de referencia.	NA	Reacción con el contraión
6	Diferente tiempo de retención.	Diferente e.	Diferente masa molecular.	Diferente espectro de infrarrojo	Diferente	Diferente multiplicidad en RMN de H y C ¹³ . El carbono del ácido carboxílico cambió de desplazamiento a uno similar a una cetona.	Misma	NA	Mismo	Misma que el producto de referencia.	pH diferente	Diferente molécula.
7	Mismo	Mismo	Mismo	Mismo	Mismo	Mismo	Mismo	NA	Mismo	Mismo	Alto contenido de Paladio	Impureza elemental
8	Diferente	Mismo	Diferencia de masa molecular similar a la del disolvente usado	Diferente	Diferente	Diferente multiplicidad en RMN de H y C ¹³ . Se observa un metíleno afectado por uno o dos heteroátomos	Mismo	NA	Mismo	Mismo	NA	Reacción con el disolvente
9	Mismo	Doble	Diferencia de 2 veces la masa molecular más 24 unidades	Diferente	Diferente	Diferente multiplicidad en RMN de H y C ¹³ . Se observa integración para dos moléculas	NA	NA	Anhídrido	NA	Espectroscopía de absorción atómica. Se determina Magnesio	Formación de sal orgánica promovida por un excipiente
10	Diferente	Mismo	Diferente masa molecular.	NA	Diferente	Diferente multiplicidad en RMN de H y C ¹³	NA	NA	NA	NA	NA	Degradoación vía radicalaria por una impureza del vehículo

M=misma; D=diferente; NN=no necesario

6. PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN DE LOS GRUPOS FUNCIONALES EN LAS SUSTANCIAS ACTIVAS

Hasta este punto se han descrito diferentes casos que pueden encontrarse, sin embargo, un proceso de fabricación puede ser susceptible a muchas variables, como la, luz, temperatura, oxígeno, agua tan solo por mencionar algunos factores. Esto parecería una tarea en extremo compleja, no obstante, como ayuda en este tema Kumar *et al.* [41] en 2011 publicó una compilación acerca de las degradaciones potenciales de los principios activos. Aunque este trabajo está enfocado en interacciones con excipientes las reacciones descritas se pueden aplicar en las sustancias activas. En este reporte se incluyen los grupos funcionales la forma de degradación, los productos generados y ejemplos de sustancias activas susceptibles de padecer estas reacciones. Esta información es en extremo valiosa para cuando se tenga entre las manos un problema de elucidación estructural. Estos datos se resumen en la Tabla 13. Adicional y grandemente ilustrativo se encuentra el trabajo de Wadekar *et al.*: en la primera parte de esta revisión [42] los autores describen las potenciales fuentes de impurezas en los principios activos. Algunos ejemplos son el salmeterol, ejemplos de impurezas en materias primas, permetezato de sodio, ciprofloxacin entre otros. En la parte II se examinan impurezas quirales, polimórficas y genotóxicas. Se mencionan varios casos incluyendo sustancias activas como la Olanzapina, Ciprofloxacina, Linezolida entre otras [43]. La parte III de estas compilaciones se enfoca a las rutas de degradación en sustancias activas e interacciones en formulaciones [44]. Por otra parte, Li compila varios mecanismos de degradación de sustancias activas incluyendo hidrolíticos, oxidativos, fotoquímicos, eliminaciones, y varios tipos de reacciones. Igualmente incluye interacciones con excipientes y degradación de compuestos biológicos [45]. Estas revisiones fungen como guías especializadas para asesorarse cuando se necesite “cazar” una impureza.

Tabla 13. Principales productos de degradación de los grupos funcionales presentes en las sustancias activas reportado por Kumar *et al.* [41].

Grupo funcional	Reacción de degradación	Producto	Ejemplo
Estéres, Lactonas	Hidrólisis ácida	Alcohol + ácido	Aspirina, Ciclandato
Amidas, Lactamas	Hidrólisis ácida o básica	Ácido + amina	Acetominofén, Cloranfenicol
Estéres carbámicos	Hidrólisis ácida + descarboxilación	Amina + CO ₂	Loratadina, Pipazetato
Imidas	Hidrólisis ácida o básica	Amida + ácido	Glutetimida
Cetonas y aldehídos	Catálisis ácida o básica	Productos de condensación Gemdiol, Tautomerización	Haloperidol, Triamcilonona
Nitrilos	Hidrólisis ácida + descarboxilación	Base + CO ₂	Cimetidina, Difenoxilato
Aminas	Oxidación	N-Óxido	Dibucaina, Dorzolamida
Imina	Hidrólisis ácida o básica	Amina + cetona	Diazepam
Hidrazina	Hidrólisis ácida o básica	Base + Hidrazona	Isoniacida
Nitro	Fotooxidación + oxidación	Aromatización	Nifedipina
Sulfonamidas	Hidrólisis ácida	Sulfonamida + producto de hidrólisis	Brinzolamida
Sulfonilureas	Hidrólisis ácida	Sulfonamida + amina	Glibenclamida

Tiol, éter, tioéter	Oxidación / hidrólisis	Oxidación / Productos de hidrólisis	Mitomicina C
Alcoholes	Deshidratación	Alqueno, rearreglo, oxidación	Butorfanol, Lovastatina, Montelukast
Fenoles	Oxidación	Cetona, rearreglo	Epinefrina
Halogenuros de alquilo	Hidrólisis	Alcohol, eliminación	Melfalan
Bencilo	Oxidación	Cetona	Ciclandelato
Olefinas	Isomerización, oxidación	Isómeros geométricos, productos de oxidación	Tiotixeno, Montelukast, Suitinib

7. INVESTIGACIONES PARA DETERMINAR LA CAUSA RAÍZ DE UN PROBLEMA

Al haber una excusión en un proceso se genera un descontrol en las especies reactantes y puede generarse una impureza. Como se ha comentado previamente se puede aislar y conocer la estructura. Aunque la elucidación estructural es un trabajo muy laborioso, el verdadero problema no es ese, el problema es cómo se evita que el evento vuelva a suceder. Para poder erradicar y prevenir que el evento no deseado sea recurrente, es necesario hacer una investigación que nos lleve a la causa raíz de la problemática. En este contexto existen diferentes metodologías para poder realizar este tipo de investigaciones. De hecho, la *Food Drug Administration* publicó un manual para poder determinar la causa raíz de una problemática determinada [46]. Básicamente este documento indica la utilización de herramientas metodológicas para determinar la causa raíz, y una vez determinada se propone la instauración de acciones correctivas o preventivas (*Corrective Actions/Preventive Actions*, CAPA) para evitar que el evento anómalo se repita. Finalmente, se debe dar seguimiento para asegurar que la medida fue eficaz y verificar las tendencias del parámetro corregido. Algunas herramientas útiles para elucidar la causa raíz de una problemática son:

- lluvia de ideas,
- mapeo de proceso
- relación de causa y efecto
- 5 porqués

7.1. La lluvia de ideas es una de las herramientas más populares para determinar una causa raíz, básicamente se reúne un equipo multidisciplinario y se dice todo lo que se sabe del proceso y que puede ser lo que ocasionó el problema, es importante destacar que no se debe omitir ninguna idea por sencilla que parezca. A menudo la causa raíz de una problemática se encuentra en los pequeños detalles.

7.2. El mapeo de proceso es una representación visual del proceso, en este flujo de proceso se puede detectar que es lo que se hizo diferente en el proceso cuestionado con respecto al proceso estándar. También sirve para acotar la búsqueda de la causa raíz, ya que puede segmentarse a una parte del proceso lo que tiene como resultado enfocar los esfuerzos en la parte del proceso que tiene la problemática.

7.3. Diagrama de causa y efecto o de espina de pescado. Esta herramienta incluye categorías que pueden depender del escenario. Se suelen evaluar categorías como personal, material, ambiente método y máquinas. La idea de esta herramienta es evaluar estos temas para generar subcategorías que ayuden a identificar la causa raíz de una problemática.

7.4. Los 5 porqué. Esta herramienta se basa en preguntarse 5 veces seguidas el porqué de una problemática. Con esta herramienta se pueden eliminar las causas superficiales y encontrar la causa raíz de una problemática. Alternativamente, existen otras herramientas de la metodología Lean six sigma que pueden ser utilizadas para determinar la causa raíz [47]. Una vez determinada la causa raíz, se deben establecer medidas correctivas o preventivas para evitar que se repita la problemática. Posterior a estos eventos se debe seguir el proceso para corroborar que la acción implementada en las acciones correctivas / preventivas fueron adecuadas. Finalmente, es necesario mencionar que el establecimiento de CAPA's sin un adecuado plan de acción son una de las principales observaciones que las agencias regulatorias proporcionan a los fabricantes.

8. CONTROL DE LAS IMPUREZAS

Establecer una medida de control generalizada es muy difícil ya que depende de las características de las moléculas involucradas, así como las condiciones de reacción, equipos de fabricación utilizados y el tipo de excursión observada. Consecuentemente se deben establecer actividades de control a la medida del proceso.

- a) Por ejemplo, una impureza proveniente de la **materia prima**, solo se puede mitigar con especificaciones estrictas que controlen el contenido de esta impureza, por norma general las impurezas muy similares en la cual la diferencia estructural entre el producto y la impureza sea de un metilo o un etilo, el producto generado prácticamente no se purifica.
- b) En el caso de impurezas **dímero, trímero**, estas se forman en concentraciones altas de reactivos con respecto al disolvente. Si es necesario evitarlas se puede aumentar la dilución para disminuir el contacto entre reactivos y producto favoreciendo el contacto reactivo vs materia prima. También se pueden utilizar rampas lentas de calentamiento para favorecer la homogeneidad de la reacción al inicio del proceso.
- c) Si el problema es la **cantidad de agua** en el producto, el agua que participa en el sistema se puede controlar estrictamente, incluyendo disolventes anhidros, controles para la determinación de agua, destilaciones azeotrópicas, o reflujo con el disolvente de reacción para eliminar el agua residual de un equipo.
- d) En el caso de encontrarse con una **forma polimórfica** diferente esto requiere estudios mucho más exhaustivos para el control, no obstante, se tiene la alternativa de utilizar una siembra con la adecuada forma sólida que permita obtener el producto deseado.
- e) Tal como lo muestra el caso 5 la formación de sales a veces es posible, por lo tanto, si en el proceso original se observa una reacción que utiliza una base y un ácido es muy probable que como subproducto se pueda obtener una sal [48]. En estos casos es de vital importancia limitar la cantidad de reactivos a adicionar y así mismo la cantidad de agua del sistema ya que puede fungir como catalizador.
- f) La generación de nuevas moléculas con fragmentos estructurales similares en ocasiones está asociadas a reacciones con condiciones de reacción agresivas. Por ejemplo, calentamientos a altas temperaturas pueden generar rearreglos o nuevas moléculas en la reacción. Rampas de calentamiento lentas, entradas de servicios a los reactores limitados a ciertas temperaturas minimizan la generación de impurezas. Concerniendo el pH, este en ocasiones juega un papel decisivo ya que puede catalizar una reacción con respecto a otra. Por otra parte, si la molécula carece de similitud estructural probablemente se trata de una contaminación cruzada en cuyo caso será necesario revisar los procedimientos de limpieza.
- g) **¿Reacción con un excipiente?** Es poco probable, pero la ventaja es que las variables están limitadas, ya que solo hay excipientes, sustancia activa y condiciones de reacción. Un dato

con mucho peso es que la fabricación de muchos de los excipientes comerciales no tiene el nivel de calidad que se tiene en la fabricación de sustancias activas en la cual se llevan a cabo buenas prácticas de fabricación. Es decir, si la impureza se genera con un excipiente es necesario cambiar de proveedor y reevaluar el proceso. Muchos excipientes contienen residuos del proceso de fabricación. Por ejemplo, la povidona contiene peróxidos, o la lactosa contiene aldehídos y agentes reductores, tan solo por poner dos ejemplos. Se recomienda consultar el trabajo de Fathima *et al.* acerca del tema [49].

- h) En el ejemplo 10, se hace alusión al impacto de un jarabe con un catalizador que hace que se inicie el proceso de degradación de la sustancia activa. Este fenómeno se acentúa por el impacto de la luz y el oxígeno. La medida correctiva propuesta más simple es cambiar el excipiente, ya que el catalizador no fue determinado. La segunda propuesta sería incluir un inhibidor radicalario y cambiar el envase del medicamento a ámbar.

Adicionalmente Prabu & Suriyaprakash puntualizan cuatro causas adicionales que pueden derivar en la obtención de impurezas [21].

- 1) En las etapas de cristalización **la calidad y el tamaño determina del cristal** impacta la calidad y la estabilidad de la molécula sintetizada. Por ejemplo, trazas de disolventes que queden ocluidas pueden impactar en el tamaño y la estabilidad del cristal que a su vez puede causar degradación del medicamento.
- 2) **Lavados de las tortas aisladas.** Las sustancias activas tienen procesos de síntesis establecidos, habitualmente la última etapa de cristalización es aislada mediante centrifugación. Es decir, aislar un sólido de un líquido que contiene impurezas. La fuerza centrífuga elimina el disolvente residual y es necesario hacer lavados con disolvente que elimine el exceso de impurezas. Esta operación unitaria es crucial para obtener perfiles de impurezas adecuados. Cuando se obtienen impurezas de proceso fuera de especificación, probablemente se trata de una desviación en el lavado de la torta.
- 3) **Secado.** Los secados en equipos rotarios con vacío y temperatura son preferibles a la utilización de un secado de bandejas en el cual el producto estático y recibiendo toda la carga térmica que puede derivar en impurezas puntuales por sobreexposición a la temperatura.
- 4) **Empacado final.** Las sustancias activas deben empacarse adecuadamente en función de su naturaleza. Por ejemplo, si es lábil al agua, se debe poner agente desecante. Si es impactado por la luz se deben utilizar bolsas que no permitan el paso de la luz. Si el problema es el oxígeno, se deben termosellar en una bolsa adecuada (por ejemplo, de aluminio) para que no haya intercambio con el medio ambiente.

Por otro lado, las sales orgánicas farmacéuticas son una interesante alternativa para purificar sustancias activas ya sea como etapas adicionales de purificación o como alternativas en la purificación de sustancias activas [50].

9. UTILIZACIÓN DE LAS IMPUREZAS EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Las impurezas pueden afectar la salud del paciente por dicho motivo es necesario asegurar que las medicinas y las sustancias activas sean seguras. No obstante, las impurezas también pueden utilizarse para otras actividades relacionadas con el desarrollo de las sustancias activas o fabricación de medicamentos. En esta tesis, Liu *et al.* compilan las principales razones por la que es necesario conocer las impurezas en una sustancia activa o en una forma farmacéutica [51]. Por ejemplo, se necesitan patrones para hacer confirmaciones específicas de las impurezas

y/o validaciones de métodos analíticos. Se utilizan también para hacer estudios toxicológicos. Otro uso o es para probar la purga de los subproductos en los diferentes procesos esto ayuda a establecer especificaciones para los intermedios de proceso. También se pueden utilizar para establecer las vías de degradación es decir como el producto podría degradar en determinadas condiciones de almacenamiento. Esto entre otras aplicaciones.

Tabla 14. Requerimientos en los que se necesitan impurezas

Requerimientos regulatorios	Requerimientos técnicos y científicos
Calidad y seguridad de los productos	Optimización de los procesos productivos
Validación de métodos	Optimización del desarrollo y la formulación
Confirmación de especificaciones	Mejora de la eficacia
Determinación de los criterios de aceptación	Estudios toxicológicos
Fecha de caducidad, fecha de reanálisis, evaluación de vida media	Síntesis de impurezas para patrones de referencia
Estudios de estabilidad y de almacenamiento	Costos
Límites toxicológicos	Predicción de las vías de degradación

10. CONCLUSIÓN

Las sustancias activas, así como las medicinas deben ser seguras para el paciente, esto se logra siguiendo los lineamientos establecidos en los procesos de fabricación. No obstante, en ocasiones hay problemas puntuales asociados a equipos, procesos o mano de obra. Estos contratiempos en ocasiones generan impurezas. Con objeto de continuar con las fabricaciones y no afectar la entrega de principios activos o medicamentos que afectarían al paciente es necesario reaccionar rápidamente y convertirnos en “cazadores de impurezas”. Para ello es necesario seguir una metodología que oriente a la resolución de problemas. El aislamiento, la trazabilidad, la elucidación estructural y confirmación son herramientas que permitirán proporcionar una causa raíz de las problemáticas. Así mismo, las investigaciones robustas que permitan determinar corroborar la causa raíz de la problemática son mandatarias para evitar repetir el problema mediante el establecimiento de acciones correctivas o preventivas. Y finalmente, verificar que las acciones implementadas han sido eficientes para evitar la recurrencia. Los ejemplos citados en este trabajo son solo una gota en el mar de opciones que se pueden presentar, a pesar de ello, la metodología es aplicable a muchas de las problemáticas que pudieran encontrarse durante la fabricación de sustancias activas o formas farmacéuticas.

CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara no presentar ningún conflicto de interés

REFERENCIAS

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Impurities in new Drug products Q3B(R2)*. The international Council for Harmonisation of Technical requirements for Pharmaceutical for Human use, Switzerland, 2006; 16 p. URL: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf>. Consultado: 08 Jul 2024.
2. Food Drug and Administration. *FDA announces voluntary recall of several medicines containing valsartan following detection of an impurity*. Silver Spring (MD), 2018. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-announces-voluntary-recall-several-medicines-containing-valsartan-following-detection-impurity>. Consultado: 08 Jul 2024.
3. A. Pozniak, L. Muller, M. Salgo, J.K. Jones, P. Larson & D. Tweats. Elevated ethyl methanesulfonate (EMS) in nelfinavir mesylate (Viracept, Roche): overview. *AIDS Res. Ther.*, 6, 18 (2009). Doi: <https://doi.org/10.1186/1742-6405-6-18>

4. S.R. Chemburkar, J. Bauer, K. Deming, H. Spiwek, K. Patel, J. Morris, *et al.* Dealing with the impact of Ritonavir Polymorphs on the late stages of bulk drug process development. *Org. Process Res. Dev.*, **4**(5), 413–417 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1021/op000023y>
5. W. Rehman, L.M. Arfons & H.M. Lazarus. The rise, fall and subsequent triumph of Thalidomide: lessons learned in drug development. *Ther. Adv. Hematol.*, **2**(5), 291–308 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1177/2040620711413165>
6. Cofepris. *Norma oficial Mexicana NOM-164-SSA1-2015, Buenas Prácticas de fabricación de fármacos*. Ciudad de México, 2016. URL: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424377&fecha=04/02/2016#gsc.tab=0. Consultado: 08 Jul 2024.
7. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Good manufacturing practice guide for active pharmaceutical ingredients Q7*. The international Council for Harmonisation of Technical requirements for Pharmaceutical for Human use, Switzerland, 2000; 49 p. URL: <http://https://database.ich.org/sites/default/files/Q7%20Guideline.pdf>. Consultado 08 Jul 2024.
8. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Impurities in new drug substances Q3A(R2)*. The international Council for Harmonisation of Technical requirements for Pharmaceutical for Human use, Switzerland, 2006; 15 p. URL: http://https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A_R2_Guideline.pdf. Consultado 08 Jul 2024.
9. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Guideline for residual solvents Q3C(R9)*. The international Council for Harmonisation of Technical requirements for Pharmaceutical for Human use, Switzerland, 2016; 50 p. URL: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q3C%28R9%29_Guideline_MinorRevision_2024_2024_Approved.pdf. Consultado 08 Jul 2024.
10. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk M7 (R2)*. The international Council for Harmonisation of Technical requirements for Pharmaceutical for Human use; Switzerland, 2017; 32 p. URL: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf . Consultado 08 Jul 2024
11. L. Muller, R.J. Mauthe, C.M. Riley, M.M. Andino, D. De Antonis, C. Beels, *et al.* A rationale for determining, testing, and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **44**(3), 198–211 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.12.001>
12. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Guideline for Elemental Impurities Q3D(R2)*. The international Council for Harmonisation of Technical requirements for Pharmaceutical for Human use, Switzerland, 2022; 88 p. URL: https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R2_Guideline_Step4_2022_0308.pdf. Consultado 08 Jul 2024.
13. J.C. Ortiz-Lara, M.Y. Salvitano-Domínguez, E. Méndez-Campos & P.V. Robles-Salgado. Impurezas elementales en las sustancias activas: Una perspectiva general. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **52**(1), 11–58 (2023). URL: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/102095/88978>
14. Cofepris. *Norma oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas Prácticas de fabricación de medicamentos*. Ciudad de México, 2015. URL: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0. Consultado 08 Jul 2024.
15. J.C. Ortiz-Lara, S. Flores-Teloxa, I.R. Contreras-Mora & A. Díaz, Impurezas orgánicas observadas en el proceso de manufactura de las Sustancias. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, **47**(1), 7–24 (2016). URL: <https://www.redalyc.org/pdf/579/57956609002.pdf>
16. C. Pan, F. Liu & M. Motto. Identification of pharmaceutical impurities in formulated dosage forms. *J. Pharm. Sci.*, **100**(4), 1228–1259 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1002/jps.22376>
17. N.V.V.S.S. Raman, A.V.S.S. Prasad & R. Reddy. Strategies for the identification, control and determination of genotoxic impurities in drug substances: A pharmaceutical industrial perspective. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **55**(4), 662–667 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.11.039>
18. D. Kushwah, H.B. Patel, P.K. Sinha & P.K. Jana. Practical approach for the determination of response factors of impurities in drugs by HPLC. *E-J. Chem.*, **8**(4), 1504–1511 (2011). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1155/2011/462364>

-
19. R. Brito da Silva & C. Aparecida de Mattos. Critical success factors of a drug traceability system for creating value in a pharmaceutical supply chain (PSC). *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **16**(11), 1972 (2019). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph16111972>
 20. S. Gorog. Critical review of reports on impurity and degradation profiling in the last decade. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **101**, 2–16 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.012>
 21. S.L. Prabu & T.N.K. Suriyaprakash. Impurities and its importance in pharmacy. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **3**(2), 66–71 (2010). URL: https://www.researchgate.net/publication/266864231_Impurities_and_its_importance_in_pharmacy
 22. N. Rahman, S.N.H. Azmi & H.F. Wu. The importance of impurity analysis in pharmaceutical products: an integrated approach. *Acred. Qual. Assur.*, **11**, 69–74 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0095-y>
 23. S.R. Shah, M.A. Patel, M.V. Naik, P.K. Pradhan & U.M. Upadhyay. Recent approaches of “impurity profiling” in pharmaceutical analysis: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, **3**(10), 3603–3617 (2012). Doi: [http://dx.doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.3\(10\).3603-17](http://dx.doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.3(10).3603-17)
 24. C.J. Mbah. Hyphenated analytical methods: Role in pharmaceutical analysis. *Acta Sci. Pharm. Sci.*, **2**(9), 67–68 (2018). URL: <https://actascientific.com/ASPS/pdf/ASPS-02-0123.pdf>
 25. S. Zasa, S.M. Lucini, F. Sciascia, V. Ferrone, R. Cifelli, G. Carlucci & M. Locatelli. Recent advances in the separation and determination of impurities in pharmaceutical products. *Instrum. Sci. Technol.*, **43**(2), 182–196 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1080/10739149.2014.921792>
 26. K.R. Dhangar, R.B. Jagtap, S.J. Surana & A.A. Shirkhedkar. Impurity profiling of drugs towards safety and efficacy: theory and practice. *J. Chil. Chem. Soc.*, **62**(2), 3543–3557 (2017). URL: <https://www.scielo.cl/pdf/jcchems/v62n2/art24.pdf>
 27. M.N. Raju, N. Kolla, K. Mukkanti & R. Bandichhor. An efficient and large-scale synthesis of Olmesartan Medoxomil: Anti hypertensive drug. *Chem. Biol. Inter.*, **3**(1), 26–37 (2013). URL: <https://www.cbijournal.com/paper-archive/jan-feb-2013-vol-1/Research-Paper-4.pdf>
 28. S.B. Madasu, N.A. Vekariya, N.M. Hari-Kiran, B. Gupta, A. Islam, P.S. Douglas & K.R. Babu. Synthesis of compounds related to the antimigraine drug eliptriptan hydrobromide. *Beilstein J. Org. Chem.*, **8**, 1400–1405 (2012). Doi: <https://doi.org/10.3762/bjoc.8.162>
 29. E. Tieger, V. Kiss, G. Pokol, Z. Finta, M. Dusek, J. Rohlicek, E. Skorepova & P. Brazda. Studies on the crystal structure and arrangement of water in sitagliptine L- Tartrate hydrates. *Crys. Eng. Comm.*, **18**, 3819–3831 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1039/C6CE00322B>
 30. J. Bauer, S. Spanton, R. Henry, J. Quick, W. Dziki, W. Porter & J. Morris. Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharm. Res.*, **18**(6), 859–866 (2001). Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1011052932607>
 31. B.P. Chekal, J. Ewers, S.M. Guiness, N.D. Ide, K.R. Leeman, R.J. Post, *et al.* Palbociclib commercial manufacturing process development. Part III. Deprotection following by crystallization for API particle control. *Org. Process Res. Dev.*, **20**(7), 1217–1226 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.6b00071>
 32. S.A. Schildcrout, D.S. Risley & R.L. Kleemann. Drug-excipient interactions of Seroxetine Maleate hemihydrate: Isothermal stress methods. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **19**(10), 1113–1130 (1993). Doi: <https://doi.org/10.3109/03639049309063006>
 33. J. Roy, M. Islam, A.H. Khan, S.C. Das, M. Akhteruzzaman, A.K. Deb & A.H.M. Alam. Diclofenac Sodium injection sterilized by autoclave and the occurrence of cyclic reaction producing a small amount of impurity. *J. Pharm. Sci.*, **90**(5), 541–544 (2001). Doi: [https://doi.org/10.1002/1520-6017\(200105\)90:5<541::aid-jps1011>3.0.co;2-0](https://doi.org/10.1002/1520-6017(200105)90:5<541::aid-jps1011>3.0.co;2-0)
 34. C.M. Rojas. The Mislow–Evans rearrangement. En: C.M. Rojas (editor). *Molecular Rearrangements in Organic Chemistry*. Wiley & sons. Inc., 2015; pp. 569–626.
 35. H. Ren, C.A. Strulson, G. Humprey, R. Xiang, G. Li, D.R. Gauthier & K. Maloney. Potassium isopropyl xanthate (IX): an ultra – efficient palladium scavenger. *Green Chem.*, **19**, 4002–4006 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1039/C7GC01765K>
 36. C.E. Garret & K. Prasad. The art of meeting palladium specifications in active pharmaceutical ingredients produced by Pd-catalyzed reactions. *Adv. Synth. Catal.*, **346**, 889–900 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1002/adsc.200404071>
-

37. P. Thatipalli, R. Kumar, C. Bulusu, R. Chakka, P.R. Padi, A. Yerra & S.A. Bollikonda. Synthesis and characterization of an anti-psychotic drug substance, Olanzapine. *ARKIVOC*, 195-201 (2008). URL: <https://www.arkat-usa.org/get-file/23361/>
38. M.M.A. El Azziz, A.G. Melad & A.S. Ashour. Grindstone neutralization reaction for the preparation of various salts of carboxylic acids. *MOJ Bioorg. Org. Chem.*, **3**(2), 31-36 (2019). URL: <https://medcraveonline.com/MOJBOC/MOJBOC-03-00095.pdf>
39. T.T. Kararli, T.E. Needham, C.J. Seul & P.M. Finnegan. Solid state interaction of Magnesium Oxide and Ibuprofen to form a salt. *Pharm. Res.*, **6**(9), 804-808 (1989). Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1015983732667>
40. R.A. Seburg, J.M. Ballard, T.L. Hwang & C.M. Sullivan. Photosensitized degradation of losartan potassium in an extemporaneous suspension formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **42**(2), 411-422 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.030>
41. B.P. Kumar, R.K. Sahu, K.V.R. Murthy, S. Rao & B. Ramu. A review on mechanism, importance and methods of compatibility testing in formulation of dosage forms. *J. Chem. Pharm. Sci.*, **4**(4), 141-151 (2011).
42. K.R. Wadekar, M. Bhalme, S.S. Rao, K.V. Reddy & E. Balasubrahmanyam. Evaluating impurities in drugs (Part I of III). *Pharm. Technol.*, **36**(2), 46-51 (2012). URL: <https://www.pharmtech.com/view/evaluating-impurities-drugs-part-i-iii>
43. K.R. Wadekar, P. Ravi, M. Bhalme, S.S. Rao, K.V. Reddy & E. Balasubrahmanyam. Evaluating impurities in drugs (Part II of III). *Pharm. Technol.*, **36**(3), 58-72 (2012). URL: <https://www.pharmtech.com/view/evaluating-impurities-drugs-part-ii-iii>
44. K.R. Wadekar, P. Ravi, M. Bhalme, S.S. Rao, K.V. Reddy, L.S. Kumar & E. Balasubrahmanyam. Evaluating impurities in drugs (Part III of III). *Pharm. Technol.*, **36**(4), 76-86 (2012). URL: <https://www.pharmtech.com/view/evaluating-impurities-drugs-part-iii-iii>
45. M. Li. *Organic Chemistry of drug degradation*. RSC Drug Discovery Series, No. 29. RSC Publishing, London, 2012.
46. L. Stevens & B. Dense. *The guide to CAPA and root cause analysis in FDA-Regulated industries*. The FDA Group, LLC. 34 p. URL: http://cdn2.hubspot.net/hubfs/1706982/White_Papers/The%20Guide%20to%20CAPA%20and%20Root%20Cause%20Analysis%20in%20FDA-Regulated%20Industries.pdf
47. M.L George, D. Rowlands, M. Price & J. Maxey. *Lean Six Sigma Pocket Toolkit: A Quick Reference Guide to 100 Tools for Improving Quality and Speed*. McGraw-Hill, New York (NY), 2005; chapter 9, pp. 141-149.
48. J.C. Ortiz-Lara & A. Balderrábano-López. Importancia de las sales orgánicas en la industria farmacéutica. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, **48**(1), 18-42 (2017). URL: <https://rmcf.afmac.mx/importancia-de-las-sales-organicas-en-la-industria-farmaceutica/>
49. N. Fathima, T. Mamatha, H.K. Qureshi, N. Anitha & J.V. Rao. Drug excipient interaction and its importance in dosage form development. *J. Appl. Pharm. Sci.*, **01**(06), 66-71 (2011). URL: <https://japs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/japs.125>
50. J.C. Ortiz-Lara. Organic salts as a tool for pharmaceutical ingredient purification: Bibliographic review. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **53**(1), 184-218 (2024). URL: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/112981/91541>
51. K.-T. Liu & C.-H. Chen. Determination of impurities in Pharmaceuticals: Why and how? En: P. Pereira & S. Xavier (editores). *Quality Management and Quality Control - New Trends and Developments*. IntechOpen, London, 2019. Doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.83849>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

J.C. Ortiz-Lara. Como ser un cazador de impurezas en las sustancias activas: una metodología y casos de estudio. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(1), 175-206 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rccquifa.v54n1.119554>