

## Estabilidad del producto farmacéutico Compvit-B<sup>®</sup> inyectable

### Stability of injectable pharmaceutical Compvit-B<sup>®</sup>

Olivia Teresa González Gay,<sup>I</sup> Liset Sordo Martínez,<sup>II</sup> Luis Javier Canal Reyes,<sup>III</sup> Liliana Francis Turner,<sup>IV</sup> Ernesto Vázquez Bandera<sup>V</sup>

<sup>I</sup> Licenciada en Biología. Especialista en Bioquímica. Tecnóloga en Procesos de la Industria Farmacéutica. Empresa de Producción de Biológicos "Carlos J. Finlay". La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Ciencias en Química Analítica. Dirección Técnica. Empresa Vidrios Lisa. La Habana, Cuba.

<sup>III</sup> Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Ciencias Farmacéuticas. Empresa de Producción de Biológicos "Carlos J. Finlay". La Habana, Cuba.

<sup>IV</sup> Licenciada en Biología. Especialista en Fisiología Animal. Profesora de la Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima, Colombia.

<sup>V</sup> Especialista de II Grado en Ciencias Neurológicas. Profesor Auxiliar. Investigador Titular. Hospital "Manuel Fajardo". La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

Compvit-B<sup>®</sup> es un polifármaco inyectable liofilizado, compuesto por 100 mg de B<sub>1</sub>, 100 mg de B<sub>6</sub> y 5 000 µg de B<sub>12</sub>. Está indicado en tratamientos de todo tipo de neuropatías y enfermedades neurodegenerativas. El objetivo de este trabajo consistió en el desarrollo tecnológico de una formulación estable. Para evaluar la calidad de este medicamento, se escalaron 3 lotes pilotos a los que se les realizaron ensayos físicos, químicos y microbiológicos con resultados satisfactorios. Los estudios de estabilidad realizados a temperatura ambiente del producto Compvit-B<sup>®</sup> en forma liofilizada, demostraron ser estable por 3 años y la formulación reconstituida por 72 h. Este medicamento está registrado en el órgano regulador cubano, Centro Estatal para el Control de Medicamentos, e incluido en el Cuadro Básico de Medicamentos de Cuba; se comercializa por la Industria Farmacéutica nacional y se encuentra generalizado en los servicios hospitalarios de Cuba.

**Palabras clave:** vitamina B<sub>1</sub>, vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>2</sub>.

## ABSTRACT

Compvit-B® is a lyophilized injectable polypharmaceutical made up of 100 mg of B<sub>1</sub>, 100 mg of B<sub>6</sub> and 5 000 µg of B<sub>12</sub>. It is prescribed to treat all types of neuropathies and neurodegenerative diseases. The objective of this paper was the technological development of a stable formulation. For the evaluation of the quality of this drug, three pilot batches were scaled up and were subjected to physical, chemical and microbiological tests; the results were all satisfactory. The stability studies of lyophilized Compvit-B® were performed at room temperature. They showed that the pharmaceutical was stable for 3 years and the formulation was regenerated for 72 hours. This drug is registered at the Cuban regulating body called State Center for Drug Control and has been included in the Basic Group of Drugs in Cuba. It has been put on the market by the national drug industry. It is also widely used in the hospital services in Cuba.

**Key words:** Vitamin B<sub>1</sub>, Vitamin B<sub>6</sub>, Vitamin B<sub>12</sub>.

---

## INTRODUCCIÓN

A principios de la década de los 90 en Cuba hubo un incremento de la incidencia de las enfermedades del tipo de las neuropatías, motivado por los cambios dietéticos en la población que originaron deficiencias de las vitaminas que intervienen de manera protagónica en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, como las del grupo B.<sup>1</sup> Se ha demostrado los vínculos metabólicos que poseen estas vitaminas en los procesos fisiológicos del hombre,<sup>2</sup> así como los resultados de la ingestión de altas dosis de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> para tratar las enfermedades del tipo de las neuropatías.<sup>3,4</sup>

La Industria Farmacéutica cubana producía hasta entonces, en forma farmacéutica inyectable e independientes las 3 vitaminas, aunque también las produce en las diferentes formas farmacéuticas en dosis suplementarias fundamentalmente. Sin embargo, numerosos autores han descrito la poca estabilidad de estas 3 vitaminas en una solución multivitamínica en un medio acuoso.<sup>5-7</sup>

La selección y desarrollo de las técnicas analíticas adecuadas y prácticas para los estudios de identificación y cuantificación de las vitaminas en una formulación de este tipo fue vital para su incorporación a la producción industrial de este medicamento, por lo que el objetivo de este trabajo fue el desarrollo tecnológico de una formulación estable compuesta por megadosis de las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> que permitiera obtener un producto farmacéutico cubano de alta calidad, que logre cubrir las exigencias terapéuticas de la población cubana para el tratamiento de enfermedades del tipo de las neuropatías, así como facilitar la adquisición de las 3 vitaminas de forma simultánea.

## MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la Planta de Inyectables de la Empresa de Producción de Biológicos "Carlos J. Finlay". Se valoraron trabajos de diferentes autores, así como las propiedades físico-químicas de cada una de las vitaminas del grupo B.

Teniendo en cuenta estos elementos se procedió a preparar una formulación, que en su composición se encontraran altas dosis de las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>, evaluándose varias pre formulaciones con diferentes variantes entre las que se encontraban la presencia de preservos y antiqelantes, en estado líquido y liofilizado (no publicado).

Se utilizó como material de envase bulbos 6R, norma DIN, transparentes de calidad hidrolítica I, con tapón de goma para liofilizar y sellos de aluminio anodizados de color plateado, de 20 mm de diámetro, respectivamente.

Se estudiaron las diferentes etapas que debían formar parte del flujo productivo para obtener este medicamento, donde se tuvo en cuenta la poca estabilidad de las 3 vitaminas en medio acuoso y el empleo de la liofilización como alternativa para lograr mayor estabilidad.

Para la identificación y cuantificación de las vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub>, en la formulación propuesta, se empleó la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), utilizándose un cromatógrafo líquido Merck (Hitachi con detector UV-Vis L-4250 Merck, Hitachi), con inyector Rheodyne 7125 y una columna RP-18. La fase móvil consistió en una mezcla de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3 mol/L a pH 2,7 y acetonitrilo (ACN) para cromatografía. El volumen de inyección fue de 20 µL para las vitaminas. Se determinaron los tiempos de retención de los picos correspondientes a las vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub> y los valores longitud de onda a los que fueron detectadas.

En el caso de la vitamina B<sub>12</sub>, se ensayaron varios protocolos de trabajo para su análisis por CLAR, ya que su detección por medio de esta técnica, en una mezcla con vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub>, puede presentar interferencias analíticas que pueden solapar los resultados, por lo que se seleccionó la espectrofotometría ultravioleta de derivadas. Este método ha sido ampliamente utilizado en el análisis simultáneo de vitaminas hidrosolubles y consiste en medir la derivada de la señal del compuesto de interés a la longitud de onda en la que la derivada de la señal del compuesto interferente corta al eje de las abscisas, es decir, se hace cero.<sup>8</sup> La determinación se realizó en un espectrofotómetro UV-VIS, Pharmacia LKB Biochrom 4060. Se registraron los espectros de absorción de la vitamina y sustancia de referencia 0,03 mg/mL; de la mezcla de vitaminas B<sub>1</sub>-B<sub>6</sub>, y sustancia de referencia 0,6 mg/mL, respectivamente.

Los métodos analíticos empleados para la identificación y cuantificación de los principios activos en la formulación fueron previamente validados y sus datos procesados por el Statgraphics.<sup>5,9,10</sup>

### Estudio de estabilidad de vida de estante

Una vez definidos los métodos de análisis a emplear, se tomaron muestras (10 bulbos de Compvit-B) de los lotes pilotos identificados como 8001, 8002 y 8003 para los estudios de estabilidad. Se determinó cuantitativamente la presencia de cada vitamina en el producto liofilizado, pH, características organolépticas, el contenido de humedad durante el tiempo de estudio, y se realizó el estudio microbiológico inicial y final a tiempos 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses de almacenamiento, a temperatura ambiente de 30 ± 2 °C y humedad relativa de 70 ± 5 %, protegidos de la luz.<sup>10</sup>

También se determinó la estabilidad de la formulación reconstituida en el tiempo de 0 a 6 días después de disolver el contenido de 10 bulbos en agua para inyección, donde se evaluaron las características organolépticas, esterilidad (inicial y final), el pH, la concentración de los principios activos en mg/mL, la nitidez y el color de la disolución.<sup>11</sup>

Con los valores resultantes de los análisis realizados se calculó la media y la desviación típica para cada tiempo. Las medias del contenido de principio activo de las muestras a 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 y 36 meses fueron comparadas con las de tiempo 0 mediante la prueba de la t de Student. En los casos en que se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores comparados, se determinó la cantidad de principio activo mediante el cálculo de la relación entre los valores iniciales de concentración y transcurrido el tiempo de almacenamiento<sup>10</sup>.

Para la estabilidad de la formulación reconstituida se tomó el contenido de 10 bulbos de cada lote. El contenido de los principios activos se analizó a tiempo 0, a los 2, 4 y 6 días, además se determinó el pH inicial y final de la disolución. Los resultados obtenidos fueron sometidos al mismo procedimiento y se tuvieron en cuenta los mismos criterios que los especificados para la estabilidad de estante. Se propuso la valoración de esta formulación al Centro Estatal para el Control de Medicamentos (CECMED) para el otorgamiento de su Registro Sanitario.

## RESULTADOS

De las preformulaciones estudiadas se seleccionó la compuesta por 100 mg de B<sub>1</sub>, 100 mg de B<sub>6</sub> y 5 000 µg de B<sub>12</sub>, con la inclusión del proceso de liofilización para incrementar su estabilidad. El flujo productivo propuesto para el escalado industrial consta de: preparación, lavado y esterilización del material de envase primario y accesorios comprometidos, llenado aséptico, liofilización, sellado, revisión, etiquetado y envase.

Los resultados de la aplicación de las técnicas analíticas fueron satisfactorios, ya que se logró identificar en la mezcla por CLAR las vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub>, donde se obtuvo un cromatograma con los diferentes tiempos de retención en minutos. Se registraron los cromatogramas para cada fase móvil a una longitud de onda de 245 nm para la vitamina B<sub>1</sub> y 290 nm para la vitamina B<sub>6</sub>.<sup>10</sup>

Se seleccionó la longitud de onda 378 nm para la determinación de vitamina B<sub>12</sub>, ya que este valor se encontraba en la zona de menor ruido. Esta técnica se ha descrito por diferentes autores para la determinación de la vitamina B<sub>12</sub> en formulaciones multivitaminicas.<sup>6,12,13</sup>

Las longitudes de onda a las cuales la primera derivada de la mezcla de vitaminas B<sub>1</sub>-B<sub>6</sub> tomó valores cero fueron a 212, 218, 220, 230, 235, 236, 240, 242, 255, 260, 366, 373 y 378 nm. La primera derivada de la vitamina B<sub>12</sub> no tomó valor cero a ninguna de estas longitudes de onda.<sup>14</sup>

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el Statgraphics, versión 5.<sup>9</sup>

La validación de las técnicas seleccionadas demostró que estas son confiables, prácticas e idóneas. Las técnicas analíticas seleccionadas permitieron obtener resultados satisfactorios y de gran confiabilidad para la cuantificación de las vitaminas en el producto farmacéutico Compvit-B.<sup>10</sup>

Los resultados de los ensayos físicos y químicos realizados al Compvit-B para la identificación y cuantificación de sus principios activos, permitieron establecer las especificaciones de calidad del producto terminado (tabla 1).

**Tabla 1.** Resultados del análisis inicial por técnica del fabricante de los lotes pilotos 8001, 8002 y 8003 que corresponden con los parámetros de calidad de la BP 27<sup>16</sup> y USP 30<sup>17</sup>

Ensayos	Lotes			Límites
	8001	8002	8003	
Características organolépticas Apariencia: liofilizado	Responde	Responde	Responde	Tableta de masa seca y porosa de color rosado
Producto reconstituido	Responde	Responde	Responde	Solución de color rojo intenso, transparente, libre de partículas
pH	3,8	3,75	4,0	De 3,0 a 5,0
Humedad	1,2 %	1,3 %	1 %	No mayor que 2 %
Valoración de vitamina B <sub>1</sub> . Identificación y cuantificación por CLAR (mg/bulbo)	99,7 mg	100,1 mg	99,8 mg	De 85,0 a 115,0 mg/bulbo
Valoración de vitamina B <sub>6</sub> . Identificación y cuantificación por CLAR (mg/bulbo)	99,9 mg	102,3 mg	103,5 mg	De 95,0-115,0 mg/bulbo
Valoración de vitamina B <sub>12</sub> . Identificación y cuantificación por espectrofotometría UV de derivadas	105,0 % 5 250 µg	102,4 % 5 120 µg	103,6% 5 180 µg	De 90 a 115 % De 4 500 a 5 750 µg
Esterilidad	Cumple	Cumple	Cumple	Ausencia de microorganismos viables

Los valores que aparecen en la tabla son la media de las muestras de los lotes pilotos analizadas.

El medicamento Compvit-B liofilizado resultó ser estable, a temperatura ambiente (30 ± 2 °C) durante 3 años, donde no se detectaron cambios en las características organolépticas, pH, ni en la cuantificación de las vitaminas que lo componen. En la tabla 2 se observan los resultados promedios de las muestras analizadas en los 3 lotes analizados.

**Tabla 2.** Resultados del estudio de estabilidad de las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> del Compvit, a los 36 meses, almacenados a 30 ± 2 °C

Tiempo (meses)	Vitamina B <sub>1</sub> (mg/bulbo)	Vitamina B <sub>6</sub> (mg/bulbo)	Vitamina B <sub>12</sub> (mg/bulbo)	pH	Características organolépticas
0	100,7	96,56	5,56	3,8	Responde
6	99,25	103,53	5,68	4,05	Responde
12	96,88	99,43	5,39	3,75	Responde
18	95,00	94,70	5,71	3,90	Responde
24	96,80	96,10	5,85	4,10	Responde
30	93,98	98,06	5,54	3,90	Responde
36	93,00	94,90	5,30	4,00	Responde

Los valores que aparecen en la tabla son la media de las muestras de los lotes pilotos analizadas

En cuanto a la formulación reconstituida se observa que a las 72 h se detectan diferencias estadísticamente significativas en las cantidades remanentes de las vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. El porcentaje de degradación de la vitamina B<sub>12</sub> es superior al 10 % con respecto al valor inicial y se encuentra cercano al valor inferior (85 %) de aceptación del contenido de B<sub>12</sub> en el liofilizado,<sup>15</sup> y en medio acuoso, estas vitaminas se degradan con rapidez según los resultados reflejados en la tabla 3. En cuanto al pH no existieron diferencias significativas en el valor obtenido en el momento inicial de ser reconstituida y pasados los 6 días.

**Tabla 3.** Resultados de la estabilidad del producto reconstituido a temperatura ambiente (30 ± 2 °C) a diferentes tiempos de muestreo

Tiempo (días)	Vitamina B <sub>1</sub> (mg/mL)	Vitamina B <sub>6</sub> (mg/mL)	Vitamina B <sub>12</sub> (mg/mL)	Características organolépticas
1	95,86	99,26	5,62	Responde
2	94,96	92,23	5,12	Responde
3	95,89	91,95	4,85	Responde
4	96,76	94,55	4,21	Responde
5	94,14	90,01	4,05	Responde
6	70,50	82,30	4,00	Responde

Los valores que aparecen en la tabla son la media de las muestras de los lotes pilotos analizadas

Los resultados que contiene la tabla 1, muestran el cumplimiento de las especificaciones de calidad por técnica del fabricante de los lotes pilotos 8001, 802 y 8003 del Compvit, que corresponden con los límites que se establecen en la British Pharmacopeia 2007<sup>16</sup> y United States Pharmaceutical 30.<sup>17</sup>

En la tabla 2 se presentan los resultados del estudio de estabilidad físico-químico por el método de vida de estante (30 ± 2 °C) durante 36 meses.

En la tabla 3 se presentan los valores de las vitaminas expresados en miligramo por mililitro, correspondientes a los valores promedios de las muestras de lotes estudiadas.

La esterilidad fue analizada a tiempo inicial y final, reportándose resultados satisfactorios, al no detectar microorganismos viables en los ensayos microbiológicos realizados, los que permiten establecer el tiempo de caducidad del producto Compvit-B, así como las condiciones de almacenamiento a  $30 \pm 2$  °C y protegido de la luz, debido a la labilidad de estas sustancias frente a la luz intensa descrita en la literatura.<sup>8</sup> Los valores son resultado de la media de los valores de los lotes pilotos para cada vitamina, según la tabla 3.

En cuanto a la formulación reconstituida se observa que a las 72 h se detectan diferencias estadísticamente significativas en las cantidades remanentes de las vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. El porcentaje de degradación de la vitamina B<sub>12</sub> es superior al 10 % con respecto al valor inicial y se encuentra cercano al valor inferior (85 %) de aceptación del contenido de B<sub>12</sub> en el liofilizado. En cuanto al pH no existieron diferencias en el valor obtenido en el momento inicial de ser reconstituida y pasados los 6 días. Teniendo en cuenta que fueron analizados dos criterios para determinar la estabilidad de la formulación reconstituida, es suficiente con que uno de estos se incumpla para que se declare la formulación inestable en el tiempo analizado, por lo que se recomienda no utilizar esta formulación después de 72 h de reconstituida.

Las especificaciones planteadas, según técnicas del fabricante, coinciden con productos similares de firmas como la Bagó, la Merck y la Roche; cumple con las especificaciones descritas en la BP 27 y USP 30.

La marca del producto fue registrada en la Oficina Cubana de Propiedad Industrial, le fue otorgado el Registro Sanitario por el CECMED, cuyo número de registro es 1618, así como su renovación 5 años después.

Compvit-B se encuentra en el Cuadro Básico del Medicamento, los niveles productivos se han ido incrementando en correspondencia con la demanda. Se comercializa en estuches de cartón que contienen 4 bulbos del producto con su prospecto. Es un producto de alta demanda por sus beneficios terapéuticos y por la posibilidad práctica de adquirir las 3 vitaminas simultáneamente.

Actualmente se produce Compvit-B en las áreas limpias de la Planta de Inyectables de la Empresa de Producción de Biológicos "Carlos J. Finlay", con crecientes niveles de producción, se distribuye en los centros de atención hospitalarios y farmacias de todas las provincias de Cuba y el municipio especial Isla de la Juventud, con excelentes resultados terapéuticos.

## DISCUSIÓN

La selección de la preformulación correspondiente al Compvit-B responde a las características individuales de sus principios activos, en un medio acuoso y se evitó adicionar quelantes, preservos u otras sustancias que pudieran interferir los propósitos terapéuticos que motivaron su elaboración.

La inclusión del proceso de liofilización en el flujo resultó adecuada para alcanzar suficiente estabilidad del medicamento, ya que las vitaminas que componen este producto farmacéutico, pueden presentar cambios morfológicos o estructurales por

diferentes causas, entre las que se encuentran la presencia de grupos hidroxilos en el medio acuoso,<sup>5</sup> el pH, la temperatura y la luz solar.<sup>18</sup> Especialmente, la vitamina B<sub>12</sub> tiende a degradarse o a interactuar con el resto de las vitaminas que se encuentran en ese medio, lo que ocasiona cambios químicos no deseados en la solución.<sup>7</sup> De esta manera la extracción de la fase líquida durante el proceso de liofilización, permite aumentar la estabilidad de la formulación propuesta y la validez farmacéutica del producto Compvit-B. La liofilización se reporta como un proceso ideal para lograr la estabilidad de vitamina B<sub>12</sub> y soluciones multivitamínicas.<sup>19-21</sup>

En la literatura se reportan diferentes metodologías para realizar el análisis de las vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub> por CLAR en soluciones farmacéuticas.<sup>22,23</sup> También se proponen métodos de alta sensibilidad como la cromatografía líquida diodo detección para el análisis de 10 vitaminas hidrosolubles de modo simultáneo.<sup>24</sup> La detección simultánea de las 3 vitaminas por CLAR, pueden solapar su espectro de absorción y provocar errores en la densidad óptica, que motivan errores en la cuantificación de la vitamina B<sub>12</sub>.<sup>13,23</sup>

La espectrofotometría de derivadas es un método muy práctico una vez que ha sido desarrollado, ya que a diferencia de la cromatografía líquida, no genera gran cantidad de residuales, y al no requerirse separación previa, el tiempo de análisis se acorta, por lo que se consideró ideal para el análisis de la vitamina B<sub>12</sub>.<sup>25</sup>

Durante el estudio de estabilidad de las muestras en forma liofilizada y reconstituida en los casos que los valores de  $t_{\text{experimental}}$  fueron mayores que el de la  $t_{\text{tabulada}}$ , las variaciones fueron menores del 10 % respecto a los valores iniciales. Además, no se observó una tendencia hacia el aumento o la disminución, sino que estos oscilan alrededor de los valores iniciales. Teniendo en cuenta estos resultados se puede afirmar que la formulación estudiada se ha mantenido estable durante 3 años. En cuanto al pH no existieron diferencias en el valor obtenido en el momento inicial de ser reconstituida y pasados los 6 días.

Compvit-B puede constituir rubro exportable y un medicamento para los importantes programas de colaboración latinoamericana que ofrece Cuba. Este medicamento tiene alta demanda ya que mejora la calidad de vida de la población de la tercera edad, que es creciente si se tiene en cuenta que la tendencia actual del comportamiento demográfico en Cuba es el envejecimiento poblacional. Es un producto de calidad, que no ha tenido reclamaciones en cuanto a su calidad ni aplicación y se emplea desde hace más de 8 años en nuestro Sistema de Salud.

Se concluye que el flujo tecnológico seleccionado para desarrollar la formulación seleccionada, correspondiente al medicamento Compvit-B fue el adecuado, incluido el proceso de liofilización para incrementar la estabilidad este. Las técnicas analíticas seleccionadas para la identificación y cuantificación de las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> en la formulación fueron adecuadas y se aplican en la actualidad en los ensayos de control de la calidad de los lotes de producción. Los estudios de estabilidad mostraron una vida útil del producto liofilizado durante 36 meses a temperatura de 30 °C y la recomendación de uso antes de las 72 h después de reconstituido.

Compvit-B está registrado en el órgano regulador cubano, CECMED, e incluido en el Cuadro Básico de Medicamentos de Cuba, es en la actualidad un producto farmacéutico de gran demanda y aceptación en la población cubana, indicado en el tratamiento de neuropatías de todo tipo fundamentalmente. Se encuentra generalizado en servicios hospitalarios del país y constituye un rubro exportable para Cuba.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ordóñez-García PO, Nieto FJ, Espinosa-Brito AD, Caballero B. Cuban epidemic neuropathy 1991 to 1994; history repeats itself a century after the amblyopia of the blockade. *An J Public Health*. 1996;86(5):738-43.
2. Krupa D. B-Vitamins: Prove Effective In Relieving Chronic Pain. San Diego: The American Physiological Society (APS); 2003. p. 1-9.
3. Nighthingale LM, Paviour D. Nutritional, optic and peripheral neuropathy a case report. *J List Cases J*. 2009;2:7762. Available from: <http://www.mendeley.com/research/nutritional-optic-and-peripheral-neuropathy-a-case-report/>
4. Lanyau YD, Macías CM. Deficiencia de vitaminas y enfermedad de Alzheimer. *Rev Cubana Salud Pública*. 2005; 31(4). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-34662005000400009&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662005000400009&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
5. Sherman HC, Burton GW. Effect of hydrogen ion concentration upon the rate of destruction of vitamin b upon heating. *J Biol Chem*. 1926;70:639.
6. King J. Estabilidad de las vitaminas. *Rev Chil Nutr*. 1987;5(3):143-52.
7. Buhler V. Vademecum for Vitamin formulations. 2001; 32-123. Available from: <http://www.mtricas.unam.mx/LibrUNAM/libro.php?rec=000943791>
8. Sánchez Rojas F, Boch Ojeda C, Cano Pavón JM. Espectrofotometría ultravioleta de derivadas. *Talanta*. 1988;35:753-61.
9. Statgraphics Plus, versión 5.1 (Manugistics, USA). December, 2001.
10. Sordo L. Estabilidad físico-química del producto farmacéutico inyectable Compvit-B. Tesis para optar por el título de Máster. IFAL, La Habana. 2001. p. 1-52.
11. World Health Organization, Guidelines for stability testing of Pharmaceutical products containing well established drug substance in conventional dosage forms. Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty first Report. WHO Technical Report. Geneva, 1996.
12. Morelli B. Determination of ternary mixtures of vitamins by ratio-spectra zero-crossing derivative spectrophotometry. *Anal Lett*. 1994 Nov.;27(14):2751-68.
13. Morelli B. High Resolution/higher-order derivative spectrophotometry for determination of ternary mixtures of B-complex vitamins in pharmaceuticals. *J Anal Chem*. 1996;354:97-102.
14. O'Haver TC, Green GL. Espectrofotometría de derivadas. Aplicación a penicilinas. *Anal Chem*. 1976(48);312-6.
15. Sordo L, Soto L, González R, González OT. Determinación de vitamina B<sub>12</sub> en una formulación multivitamínica por espectrofotometría de primer orden. *Acta Farm Bonaerense* 1999;18(2):135-9.

16. British Pharmacopeia. Thiamine Chlorhidrate and Pyridoxine Chlorhidrate. Vol. III. London: The Stationary Office; 2007.
17. United States Pharmacopoeial Convention and National Formulary 25st. USP XXX. United States Pharmacopoeia Convention. User Guide Cyanocobalamin United Pharmacopoeial Convention. Rockville: Staff Liaison; 2007. [monographic in CD-ROM].
18. Shepard GS, Labadarios D. Degradation of B<sub>6</sub> vitamin in standard solution. Clin Chem Acta. 1986 Nov.; 15:160(3);307-11.
19. Barary M, Addel-Harrid M, Hassan E, Elsayed M. Simultaneous spectrofluorimetric determination of B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>6</sub> in pharmaceutical multivitamin preparation. Pharmazie. 1986 Jul.; 41(7):483-5.
20. Komaromy-Hiller G, Nutlal KL. Effect of storage on serum vitamin B<sub>12</sub> and folate stability. Ann Clin Lab Sci. 1997; 27(4)249-53.
21. Thorpe SJ, Heat A, Blacmore S, Lee A, Hamilton M. International collaborative study to evaluate a bath of lyophilized serum for B<sub>12</sub> and folate content. Clin Chem Lab Med. 2007; 45(3):380-6.
22. Okamoto H, Nakajima T. Stability-indicating HPLC method for determination of vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y B<sub>6</sub> in pharmaceutical liquid dosage form. J Chromatograph A. 2003; 986:153-7.
23. Shino T, Rakesh K, Ashutosh S, Roshan, I Badri P. A study of the heat stability of the vitamin B factors required. Indian J Chem Technol. 2008 Nov.; 15:598-603.
24. Konings EJ. Detection of 10 water soluble vitamins by Liquid chromatography-diode-array detection (LC-DAD) in pharmaceutical preparation. International Committee on Food Nutrition, 2006 Jan-Feb.; 89(1):285-8.
25. González R, Soto L. Métodos para el análisis simultáneo de vitaminas hidrosolubles. Rev Mex Cienc Farm. 1999 Jul-Sep.; 30(2):9-14.

Recibido: 2 de mayo de 2011.  
Aprobado: 18 de junio de 2011.

Lic. *Olivia Teresa González Gay*. Empresa de Producción de Biológicos "Carlos J. Finlay". La Habana, Cuba. Correo electrónico: [teregay@infomed.sld.cu](mailto:teregay@infomed.sld.cu)