

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe de actividades del Servicio Social: Identificación de analgésicos no esteroides y cafeína por UV y/o HPLC

Proyecto genérico correspondiente a: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Alumno: Omar Alejandro González Salazar

Matrícula: 2143059074

Asesores: M. en C. José Raúl Medina López
M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

Lugar de realización: Laboratorios de Farmacocinética y Farmacodinamia N-102 y N-012 de UIDIS, Universidad Autónoma Metropolitana; Unidad Xochimilco.

Fecha de inicio del proyecto: 25 de septiembre de 2019

Fecha de término del proyecto: 25 de marzo de 2020

JUNIO, 2023

Índice

Introducción.....	4
Marco teórico.....	6
Aspectos biofarmacéuticos.....	6
Condiciones para las pruebas de disolución.....	6
Equipos de disolución.....	6
Aparatos.....	7
Medios de disolución.....	7
Agitación.....	7
Perfil de disolución y equivalencia <i>In vitro</i>	8
Acido acetil salicílico (AAS).....	8
Cafeína (CAF).....	9
Objetivos.....	11
General.....	11
Específico.....	11
Desarrollo experimental.....	12
Productos químicos.....	12
Instrumentos.....	12
Uniformidad de contenido y valoración.....	12
Curvas de calibración estándar de AAS y CAF.....	12
Validación de métodos analíticos.....	12
Linealidad.....	12
Exactitud y precisión.....	13
Estabilidad.....	13
Análisis de datos.....	14

Resultados.....	15
Discusión.....	22
Conclusión.....	23
Referencias.....	24
Resumen.....	29

INTRODUCCIÓN

Medicamentos con la combinación de ácido acetilsalicílico (AAS) y otros fármacos analgésicos y la cafeína (CAF) están ampliamente disponibles alrededor del mundo. El estudio de las interacciones de estos compuestos y excipientes pueden afectar seriamente algunas propiedades tecnológicas durante la fabricación, así como la solubilidad, velocidad de disolución y biodisponibilidad, todavía es investigada por varios autores [1, 2]. El AAS es un fármaco comúnmente utilizado en el tratamiento de la fiebre, dolor de cabeza y enfermedades cardiovasculares [3]. La CAF es clínicamente seguro y su efecto sobre el dolor, varios autores han informado sobre su manejo [4, 5].

Según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), el AAS es un fármaco de clase I (alta solubilidad/alta permeabilidad) [6] mientras que CAF tiene buena solubilidad acuosa independiente del pH fisiológico rango (~50 mg/ml) [7]. Basado en datos científicos publicados anteriormente, se puede recomendar un procedimiento de bioexención basado en BCS para la aprobación de nuevas formulaciones de formas sólidas de dosificación oral que contiene AAS como único ingrediente farmacéutico activo [6]. Por otro lado, solo las formulaciones de combinaciones de dosis fijas que contenga BCS clase I o clase III, o una combinación de clase I y la clase III puede ser candidata para una bioexención [8], por lo que este enfoque es no aplicable para tabletas AAS/CAF hasta la fecha, CAF no ha sido clasificado.

La prueba de disolución oficial para tabletas AAS se describe en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP). El método indica el uso del Aparato 1 (canastilla) a 50 rpm y 1000 ml de solución amortiguadora de acetato 0.05 M pH 4.5 como medio de disolución. En estas condiciones, no menos del 80% del fármaco debe disolverse en 30 min [9]; Sin embargo, La prueba de disolución oficial para tabletas AAS/CAF todavía está disponible en análisis cromatográfico para mezclas compuestas de AAS y agentes antihipertensivos, antiplaquetarios o antitrombóticos, así como CAF combinado con algunos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), han sido desarrollados por varios autores [10-12].

Específicamente, para la mezcla de AAS y CAF en productos farmacéuticos para formulaciones espectrofluorométricas [13] y electroquímicas [3, 14] se han publicado las determinaciones. El análisis electroquímico también se ha propuesto para la cuantificación simultánea de AAS y CAF en muestras de orina humana [15]. Se han sugerido algunas técnicas para el tratamiento de datos espectrofotométricos de espectros compuesto por bandas no resueltas [16-18]; sin embargo, un método UV derivativo para la identificación simultánea de AAS y CAF es no incluido.

En el presente estudio, se proponen un método UV derivativo rápido y simple mediciones en los puntos de cruce por cero para la determinación de AAS y CAF en una formulación comercial (tabletas de liberación inmediata). Para verificar la aplicabilidad de este procedimiento, el método se utilizó para determinar el perfil de

disolución *in vitro* cada fármaco usando el USP Aparato 2 (paleta) a 75 rpm y solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4 como medio de disolución. El objetivo es tener un método confiable y fácil para determinar AAS y CAF utilizando recursos analíticos limitados. Los resultados se compararon con datos publicados.

MARCO TEÓRICO

Aspectos biofarmacéuticos

Para el desarrollo de nuevas formulaciones genéricas de medicamentos, se requiere la realización de estudios *in vitro* e *in vivo* que pongan en manifiesto que estos nuevos medicamentos genéricos sean capaces de tener la misma biodisponibilidad que el producto de referencia. La disolución de un fármaco es prerequisite para la absorción y respuesta clínica de la mayoría de los fármacos administrados por vía oral. Debido a la naturaleza crítica de la liberación, la disolución se considera una prueba importante para predecir el comportamiento del fármaco *in vivo*. Con base en esta consideración general se utilizan las pruebas de disolución *in vitro* para las formas de dosificación oral, evaluar la calidad de un producto medicinal lote a lote, guiar el desarrollo de nuevas formulaciones, asegurar la calidad y rendimiento adecuados del producto después de ciertos cambios tales como cambios en la formulación, proceso y sitio de fabricación y el aumento en escala del proceso de fabricación. Se deberá considerar el conocimiento actual acerca de la solubilidad, permeabilidad, disolución y farmacocinética de un producto medicinal al definir las especificaciones de las pruebas de disolución para el proceso de aprobación del medicamento. La velocidad de disolución es un parámetro que expresa la rapidez con la que un soluto se disuelve en un disolvente en condiciones determinadas de agitación y temperatura, entre otros factores. La velocidad de disolución está íntimamente relacionada con la solubilidad, pero responde a una noción completamente diferente: mientras que la solubilidad es un concepto estático, que se refiere a un estado de equilibrio termodinámico, la velocidad de disolución responde a un concepto dinámico del proceso: qué cantidad o concentración de fármaco se disuelve por unidad de tiempo. Los estudios de disolución *in vitro* son de gran importancia ya que permiten establecer una cuantificación de fármaco disuelto en función del tiempo (perfiles de disolución) es decir evalúan la cinética de la disolución [17].

Condiciones para las pruebas de disolución

La prueba de disolución constituye quizás el método más importante para el desarrollo y evaluación de una forma farmacéutica sólida oral, por lo que la mayor parte de los equipos y técnicas que han sido utilizados en estudios de disolución están dirigidos a las formas sólidas. Todas las variantes tanto en el equipo como en la técnica de disolución influyen en el proceso de mezcla que tiene lugar en cada método, lo cual se debe tomar en cuenta para establecer los métodos de disolución oficiales para cada medicamento [19].

Equipos de disolución

Existe a la fecha una gran diversidad de equipos y de técnicas reportadas para el estudio de la disolución aparente de fármacos contenidos en diversas formas

farmacéuticas, aunque la mayoría han sido diseñados originalmente para formas sólidas. Dado que este amplio espectro de equipo y metodologías influyen de distinto modo en el perfil de disolución y, por consiguiente, en su posible correlación con 9 resultados de biodisponibilidad, se debe decidir cuáles de ellos serán establecidos como métodos de disolución oficiales [25].

Aparatos

Los Aparatos de prueba de disolución utilizados más comúnmente son el Aparato 1 USP (canastillas/cestas giratorias) y el Aparato 2 USP (paletas). Los Aparatos de canastillas y paletas son sencillos, robustos, están bien normalizados y se utilizan en todo el mundo. Estos métodos son lo suficientemente flexibles como para permitir a realización de pruebas de disolución para una variedad de productos medicinales. Estos métodos de disolución están ampliamente descritos en la Farmacopea Estadounidense (USP). Se pueden considerar otros métodos de disolución si los dos anteriores no cumplen con las características y procedimientos de disolución *in vitro* para un fármaco en particular. Entre ellos se encuentran el Aparato 3 USP (cilindro de doble acción) y el sistema de celda de flujo continuo Aparato 4 USP. Ambos descritos en la USP. Debido a la diversidad de variables biológicas y de formulación, y la naturaleza evolutiva del conocimiento de esta área, en ocasiones es necesario realizar diversas modificaciones a las condiciones experimentales de disolución, para lograr obtener una correlación *in vivo* apropiada con los datos de liberación *in vitro*. Por lo general se pueden utilizar las metodologías y los aparatos de disolución descritos en la USP con muestreos manuales o procedimientos automatizados [17].

Medios de disolución

En lo posible, las pruebas de disolución se deberán realizar bajo condiciones fisiológicas. Esto permitirá la interpretación de los datos de disolución en relación con el comportamiento *in vivo* del producto. Las condiciones de prueba deberán basarse en las características fisicoquímicas del principio activo y las condiciones ambientales a las cuales podría estar expuesta la forma de dosificación tras la administración oral. Todas las pruebas de disolución deberán realizarse a una temperatura de $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, es necesario considerar que el aire disuelto influye en la disolución del fármaco, por lo que el medio de disolución deberá desgasificarse previamente [26].

Agitación

Por lo general se deberán mantener condiciones de agitación suave durante las pruebas de disolución para permitir un poder de discriminación máximo y para detectar productos con un pobre rendimiento *in vivo*. Para el método de canastilla, la velocidad de agitación común es de 50-100 rpm. Para el método de paleta, es de 50-75 rpm [27]. En el caso del Aparato 4 USP, la velocidad de flujo del medio de

disolución se encuentra entre los valores de 8-32 mL/min. La información sobre su aplicación en la evaluación de medicamentos es limitada. En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 8ª edición, se indican las condiciones para realizar el estudio de los perfiles de disolución de comprimidos de trimetoprima y sulfametoxazol. El método utiliza el Aparato 2 USP (paletas) a 75 rpm con 900 mL de HCl 0.1 N a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ como medio de disolución, con tiempos de muestreo de 15, 20, 30, 45 y 60 min y determinación espectrofotométrica con un barrido de 320 a 240 nm (Q=75% a 60 min).

Perfil de disolución y equivalencia *In Vitro*

La prueba de disolución de un solo punto ha sido utilizada para evaluar cambios luego de su aprobación, como un aumento del tamaño de lote cambios en el sitio de fabricación, cambios en los componentes o en la composición. Un cambio del producto también aplica a disminuir la dosis de un producto previamente aprobado. En la presencia de cambios menores, la disolución de un solo punto puede ser adecuada para asegurar que no existen cambios en la calidad y en las características del producto. Para mayores cambios, la comparación de perfiles de disolución bajo condiciones idénticas para el producto antes y después del cambio es recomendable. Los perfiles de disolución son considerados iguales en virtud de la totalidad de los perfiles y la similitud de cada punto muestreado en el tiempo de disolución. La comparación de los perfiles de disolución puede llevarse a cabo utilizando un modelo independiente [28].

Acido Acetilsalicílico (AAS)

La aspirina (ácido acetilsalicílico, AAS), cuya estructura se muestra en la Figura 1, es una de las medicinas que más se usa en el mundo con un valor de 40,000 toneladas al año. El nombre genérico de aspirina es ácido acetilsalicílico (AAS, PM = 180.157) y su marca registrada es por la compañía Bayer. El mayor uso de la aspirina es en el control de dolor debido a distintas causas, como por ejemplo dolor de cabeza, menstruación y artritis. Además, se usa como anti-inflamatorio. Por otro lado, los efectos secundarios pueden ser úlceras gástricas y sangrado estomacal [4].

El AAS es un ácido débil cuyo pKa se encuentra cerca de 4.30. Su solubilidad en agua a 20 °C es ~ 3mg/mL, pero es función del pH. A pH menor del pKa predomina la especie neutral por lo que su solubilidad es menor. A pH mayor de 5.30 predomina la base conjugada con carga negativa por lo que su solubilidad es mayor. La cantidad de AAS en una tableta comercial se puede determinar mediante titulación volumétrica usando NaOH como agente titulante. Sin embargo, este análisis presenta ciertas dificultades. Entre ellas la poca solubilidad de AAS en medio acuoso. Además, al solubilizarse en medio acuoso, el AAS puede llevar a cabo reacción de hidrólisis.

Cafeína (CAF)

La Cafeína, también denominada teína, guaranina o mateína, es un constituyente natural presente en más de 60 especies de plantas. Se encuentra en la dieta diaria contenida en bebidas como el café o el té, el chocolate y algunos refrescos. Se podría considerar la sustancia estimulante de mayor consumo y la más socialmente aceptada a nivel mundial. La CAF es un polvo inodoro, incoloro y amargo. Friedrich Ferdinand Runge la aisló del café en 1819 y del té en 1827, pero su estructura química no se describió hasta 1875 por E. Fischer. La CAF (1,3,7-trimetilxantina) y los otros alcaloides metilxantínicos, como la teobromina (3,7- dimetilxantina) y la teofilina (1,3-dimetilxantina), son derivados del grupo de las xantinas, que a su vez se derivan de las purinas. Se relacionan farmacológicamente con los psicoestimulantes [5]. Este alcaloide tiene un punto de fusión de 238°C y un pKa igual a 10.4, así como un valor de logP (octanol-agua) de -0.07.

La CAF es un potente inhibidor competitivo de la fosfodiesterasa, enzima responsable de la inactivación del AMPc, mediador de varias funciones celulares como la relajación del músculo liso e inhibición de la liberación de histamina por los mastocitos. La CAF también incrementa la permeabilidad del calcio en el retículo sarcoplásmico y bloquea los receptores de adenosina. Debido a sus efectos estimulantes en el SNC produce sensación de bienestar en los pacientes como mejoría del estado de ánimo, menor somnolencia, menor fatiga y mayor rapidez y claridad de pensamiento, a las dosis de 50 a 200 mg. El ACE inhibe específicamente la ciclooxigenasa del sistema nervioso central, evitando así la síntesis de prostaglandinas a nivel central. La CAF se absorbe completa y rápidamente tras su administración oral, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas (5 a 25 µg/ml) entre 30 y 90 minutos. No existe evidencia de metabolismo pre-sistémico. La CAF se distribuye ampliamente en el organismo con un volumen de distribución aparente correspondiente a 0.55 L/kg y se une a las proteínas plasmáticas en aproximadamente 36%. El 80% de la CAF se metaboliza formando compuestos conjugados sin acción farmacológica y sólo el 4% se convierte en teofilina. Su vida media es de 4 a 5 horas. Se elimina por orina como metabolitos y alrededor de 1% inalterado. Dado que la CAF es metabolizada por el CYP1A2 su eliminación se incrementa en los fumadores y disminuye en pacientes a quienes se administra cimetidina, disulfiram y anticonceptivos orales.

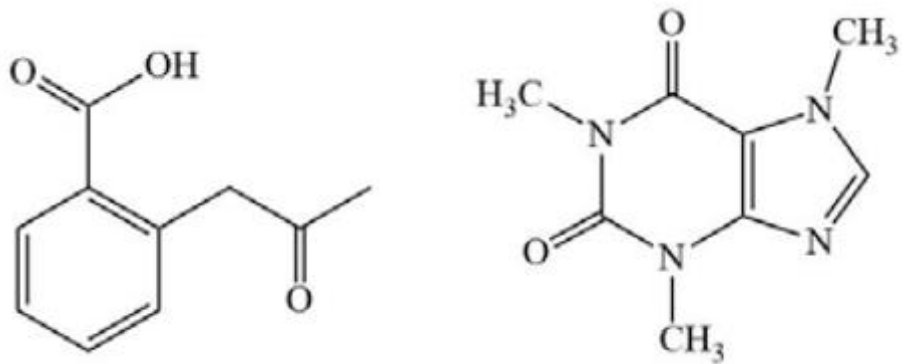


Figura 1 Estructuras moleculares de AAS (izquierda) y CAF (derecha)

OBJETIVOS

General

Identificar paracetamol y/o ácido acetilsalicílico combinado con cafeína por espectrofotometría derivativa y/o cromatografía de líquidos.

Específicos

- Realizar pruebas preliminares de identificación y cuantificación de paracetamol y/o ácido acetil salicílico combinados con cafeína por métodos espectroscópicos o cromatográficos.
- Realizar las pruebas de valoración y uniformidad de dosis a los medicamentos en estudio.
- Determinar los perfiles de disolución de comprimidos con paracetamol y/o ácido acetil salicílico con cafeína en el sistema de celda de flujo continuo.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Productos químicos

Los compuestos estándar AAS y CAF se adquirieron de Sigma-Aldrich Co. (St Louis MO, EE. UU.). Las sales monobásicas y dibásicas de fosfato de sodio y metanol grado AR se adquirieron de J.T. Baker México (Xalostoc, México). Las formulaciones comerciales que contenían dos dosis de AAS y CAF (500/30 mg y 650/65 mg, respectivamente) fueron tabletas de Cafiaspirina® y Cafiaspirina Forte (Bayer de México, S.A de C.V.). Las autoridades sanitarias mexicanas han establecido estas marcas comerciales como formulaciones de referencia (Cofepris).

Instrumentos

Los perfiles de disolución se determinaron usando el método de celda de flujo (aparato IV de USP, Sotax CE6, Suiza) con flujo laminar a 16 ml/min. La adición de tabletas se hizo con cuidado en el tiempo cero y a los 10, 20, 30, 45 y 60 minutos se tomaron muestras de 5 ml de medio de disolución. Como medio de disolución se usó tampón de fosfato 0,1 M, pH 7,4 a $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Uniformidad de contenido y valoración

La uniformidad del contenido y las pruebas de ensayo se realizaron de acuerdo con los procedimientos descritos en la USP [9].

Curvas de calibración estándar de AAS y CAF

Las curvas de calibración estándar se prepararon en solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4 con cinco soluciones de AAS (40-120 $\mu\text{g/ml}$) y cinco soluciones de CAF (5-25 $\mu\text{g/ml}$). Los perfiles de disolución se determinaron usando el método de celda de flujo (aparato IV de USP, Sotax CE6, Suiza) con flujo laminar a 16 ml/min. La adición de tabletas se hizo con cuidado en el tiempo cero y a los 10, 20, 30, 45 y 60 minutos se tomaron muestras de 5 ml de medio de disolución. Como medio de disolución se usó solución amortiguadora de fosfato 0.1 M, pH 7.4 a $37.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Validación de métodos analíticos

El método UV derivativo propuesto fue validado de acuerdo con el Directrices de la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH) [20]. Se determinaron la linealidad, exactitud, precisión y estabilidad del sistema.

Linealidad

Se realizaron dos series de curvas de calibración estándar de AAS y CAF en solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4. Posteriormente, la respuesta 1^{D} se

registró a cierta longitud de onda. Los datos obtenidos fueron ajustados por análisis de regresión lineal y los coeficientes de regresión.

Se calculó el análisis de varianza (ANOVA). La respuesta frente a AAS y la proporcionalidad de la concentración de CAF fue demostrada por calcular la desviación estándar relativa porcentual (RSD) del factor de respuesta en el rango de la curva de calibración de la siguiente manera:

$$RSD = \left(\frac{DESVIACION\ ESTANDAR}{MEDIA} \right) * 100$$

Exactitud y precisión

Para verificar la exactitud y precisión del método UV derivativo propuesto, se utilizó el método de adición estándar, por lo tanto, los efectos de matriz se pueden eliminar fácilmente. Este procedimiento se puede utilizar para la resolución de mezclas binarias en muestras complejas con incógnitas matrices. Veinte tabletas fueron pesadas con precisión y trituradas en un mortero; luego, las cantidades de polvo de tabletas de AAS y CAF más una cantidad de estándar AAS o CAF (10 mg) para finalmente dar el equivalente al 80, 100 y 120% de la dosis de cada fármaco, fueron disueltos por separado en 900 ml de solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4 a 37.0±0.5 °C. Para este propósito, se utilizó el Aparato USP 2 (paleta) a 75 rpm. A los 60 min, las cantidades de AAS y CAF disueltos se calcularon con referencia a una curva de calibración estándar preparados el día del experimento. Cada determinación fue realizada por triplicado. El error relativo porcentual (RE) fue tomado como una medida de la precisión y el RSD como medida de precisión. Los experimentos se llevaron a cabo en tres días consecutivos RE se calculó de la siguiente manera:

$$RE = \left(\frac{ENCOTRADO - AÑADIDO}{AÑADIDO} \right) * 100$$

Estabilidad

La estabilidad de las soluciones analíticas se evaluó analizando dos soluciones de AAS (50 y 100 µg/ml) y dos soluciones de CAF (8 y 22 µg/ml) en una solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4. Estas soluciones se analizaron a las 0 h en 25 °C (tiempo cero) ya las 24 y 48 h después se almacenaron a 4 y 25 °C. A los 24 y 48 hrs (a cada temperatura) el porcentaje de diferencia absoluta (DA) recuperada de AAS y CAF se calculó de la siguiente manera:

$$DA = \left(\frac{inicial - final}{inicial} \right) * 100$$

Análisis de los datos

Para describir el rendimiento de liberación *in vitro* de AAS y CAF de comprimidos comerciales fármaco disuelto a los 60 min (Q60), se calcularon el tiempo medio de disolución (MDT) y la eficiencia de disolución (DE). MDT y DE se han sugerido como parámetros adecuados para comparar en curvas de liberación *in vitro* [21, 22] y también se pueden utilizar para establecer una correlación significativa *in vitro/in vivo* [23]. Para obtener los valores de MDT y DE se utilizó el programa complementario DDSolver [24]. Además, *in vitro* los datos de liberación de AAS y CAF se ajustaron a la ecuación de la hipérbola:

$$y = \left(\frac{ax}{b + x} \right)$$

Para esta actividad se utilizó el software Sigma Plot (Versión 11.0). Con parámetros a y b, se calcularon valores de t50% y t85%.

RESULTADOS

Uniformidad de contenido y ensayo

El medicamento de referencia utilizado cumplió con la uniformidad de contenido y criterios de ensayo de la farmacopea. Los porcentajes de AAS y CAF sobre la prueba de uniformidad de contenido varió de 85 a 115% y el ensayo de prueba estuvo entre 90 y 110%. Los resultados se muestran en la tabla 1.

Uniformidad de contenido y ensayo

Medicamento	Uniformidad del contenido(%min %max)	Ensayo (%)
AAS	98.25-98.67	98.41 ± 0.15
CAF	99.79 -105.05	102.61 ± 2.10

Tabla 1: Uniformidad del contenido y resultados del ensayo de ácido acetilsalicílico (AAS) y cafeína (CAF)

Espectro de absorción

Los espectros de orden cero de AAS a 80 µg/ml, CAF a 15 µg/ml y una mezcla sintética de ambos fármacos (MIX) a las mismas concentraciones son representado en la fig. 2A. El espectro de orden cero de la solución MIX demostrando una marcada superposición de modo que el método directo no fue posible la cuantificación simultánea de AAS y CAF. El 1D de espectros de orden cero de cinco soluciones estándar de AAS (40-120 µg/ml) y cinco soluciones de CAF (5-25 µg/ml), así como el MIX solución (80 µg/ml de AAS y 15 µg/ml de CAF), se muestran en la fig. 2B. Los puntos de cruce por cero para la determinación de AAS y CAF fueron identificados a 245 y 295 nm, respectivamente. En estas longitudes de onda, todas las señales analíticas fueron proporcionales a las concentraciones de fármaco y como puede verse, no se encontró interferencia simultánea.

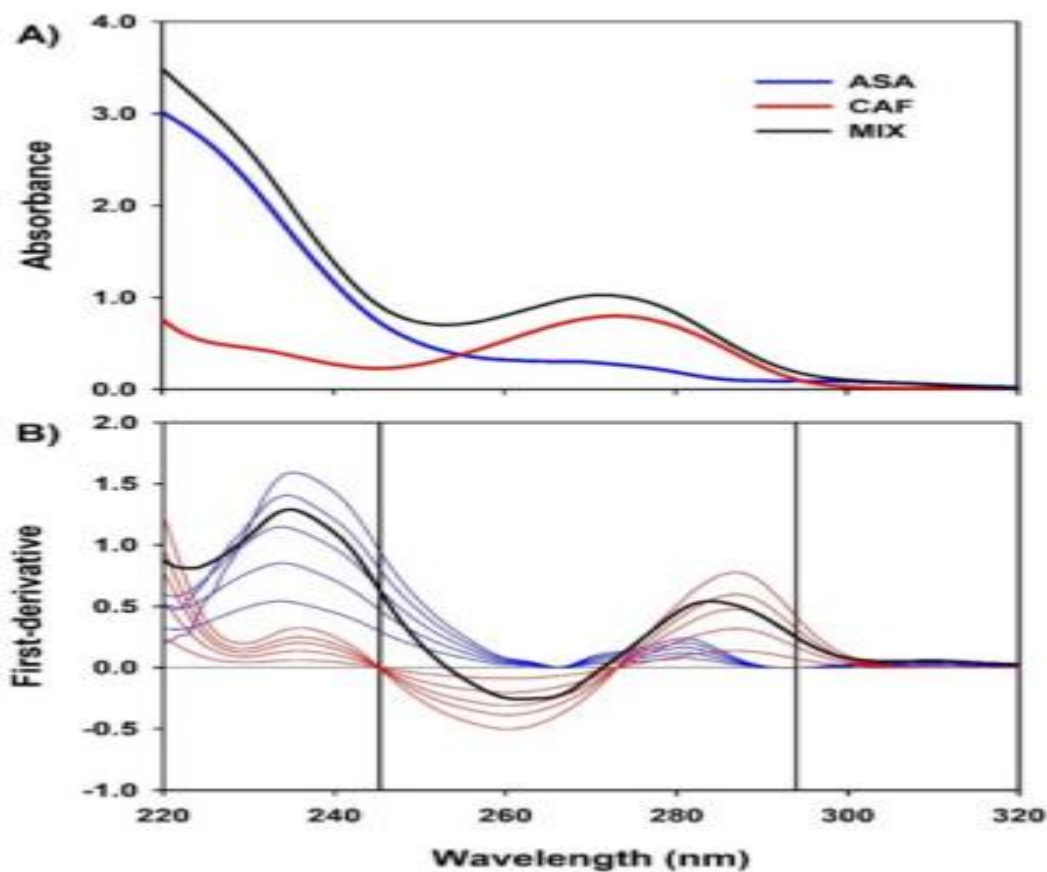


Fig. 2: (A) Espectros de orden cero de una solución de ácido acetilsalicílico (AAS) a 80 $\mu\text{g/ml}$, cafeína (CAF) a 15 $\mu\text{g/ml}$ y una sintética mezcla de ambos fármacos (MIX) a las mismas concentraciones. (B) Método derivado de primer orden soluciones estándar y MIX. Las líneas verticales muestran los puntos de cruce por cero utilizados para cuantificar AAS (245 nm) y CAF (295 nm)

Validación del método

Linealidad

La ecuación de regresión media de dos curvas de calibración estándar de AAS y CAF se muestran en la fig. 3. Ambas regresiones lineales fueron significativas ($R^2=0,999$; $*P<0,05$). El valor RSD del factor de respuesta para los rangos AAS y CAF fue $<3\%$.

Exactitud y precisión

Para probar la exactitud y precisión del método UV derivativo propuesto, se analizó el porcentaje de la dosis de cada fármaco se llevó a cabo durante tres días ($n=3/d$). Dentro del día se calculó la precisión y exactitud entre días, y los resultados se muestran en la tabla 2.

Estabilidad

La estabilidad de ambos fármacos en solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4 fue evaluado con el análisis de dos soluciones de AAS y dos soluciones de CAF en diferentes momentos. La diferencia absoluta a las 24 y 48 h es se muestra en la tabla 3.

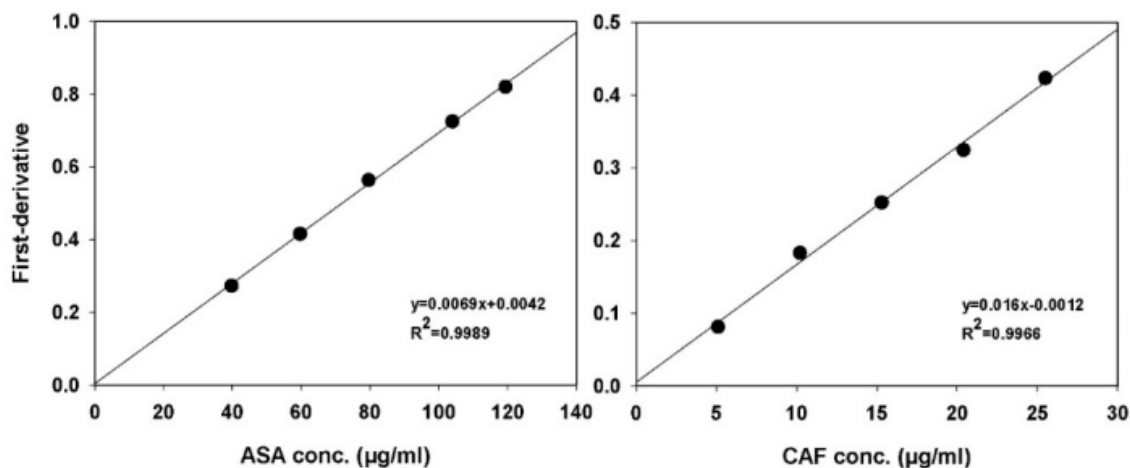


Fig. 3: Linealidad de las curvas de calibración estándar de ácido acetilsalicílico (AAS) y cafeína (CAF) preparadas en tampón fosfato 0,1 M pH 7,4. datos medios, n=2

Ensayo de exactitud y precisión para la determinación AAS y CAF

medicamento/ dosis (mg)	Dentro del día				Entre días		
	agregado (mg)	encontrado (mg)	RSD (%)	RE(%)	encontrado (mg)	RSD (%)	RE(%)
AAS/500	400	395.45±2.77	0.7	-89	400.44±10.30	2.57	0.11
	500	503.03±4.36	0.87	0.61	502.25±6.19	1.23	0.45
	600	599.37±9.88	1.64	-0.1	602.18±9.95	1.65	0.36
CAF/30	24	24.51±0.26	1.07	1.07	24.39±0.49	2.02	1.61
	30	30.69±0.11	0.37	0.37	30.86±0.17	0.55	2.89
	36	36.06±0.41	1.15	1.15	36.12±0.34	0.94	0.33

Tabla 2: Datos de exactitud y precisión para la cuantificación simultánea de ácido acetilsalicílico (AAS) y cafeína (CAF) por el método derivado UV propuesto, Los datos se expresan como media ± desviación estándar (dentro del día n=3; entre días n=9).

Estabilidad AAS y CAF

Medicamento	°C	Conc. (µg/ml)	24h	48h
AAS	4	50	-7.61	-13.96
		100	-8.94	-16.94
	25	50	-39.55	-51.24
		100	-50.45	-80.85
CAF	4	8	2.85	5.37
		22	3.1	5.94
	25	8	18.02	26.87
		22	18.76	32.41

Tabla 3: Diferencia absoluta (%) respecto al tiempo cero para evaluar la estabilidad a 4 y 25 °C de ácido acetilsalicílico (AAS) y cafeína (CAF) en 0,1 Solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4. Los datos se expresan como media (n=5).

Perfil de disolución

Los perfiles de disolución de AAS/CAF obtenidos con el Aparato 4 USP se pueden mostrar en la figura (4 y 5).

Para la comparación de los perfiles de disolución (formulación dosis baja y dosis alta) se calcularon el fármaco disuelto a los 60 min (Q_{60}), DE, $t_{85\%}$ estos se muestran en la tabla 4. Teniendo en cuenta que más del 85 % del fármaco se disolvió a los 15 min no hay una comparación de perfiles esto se puede mostrar en las tablas (5) en el cual se puede ver la comparación entre aspirina de dosis baja con AAS de dosis alta en las cuales ambas muestran el mismo comportamiento a los 15 minutos.

Método de celda de flujo continuo

Q_{60} (%)	102.8±0.9	103.6±0.4	104.4±0.2	104.6±0.3
DE (%)	89.5±0.8	92.2±0.4	91.9±0.4	93.2±0.2
$t_{85\%}$ (min)	7.6±1.0	4.1±0.4	4.6±0.4	3.6±0.3

Tabla 4 parámetros independientes del modelo de AAS/CAF

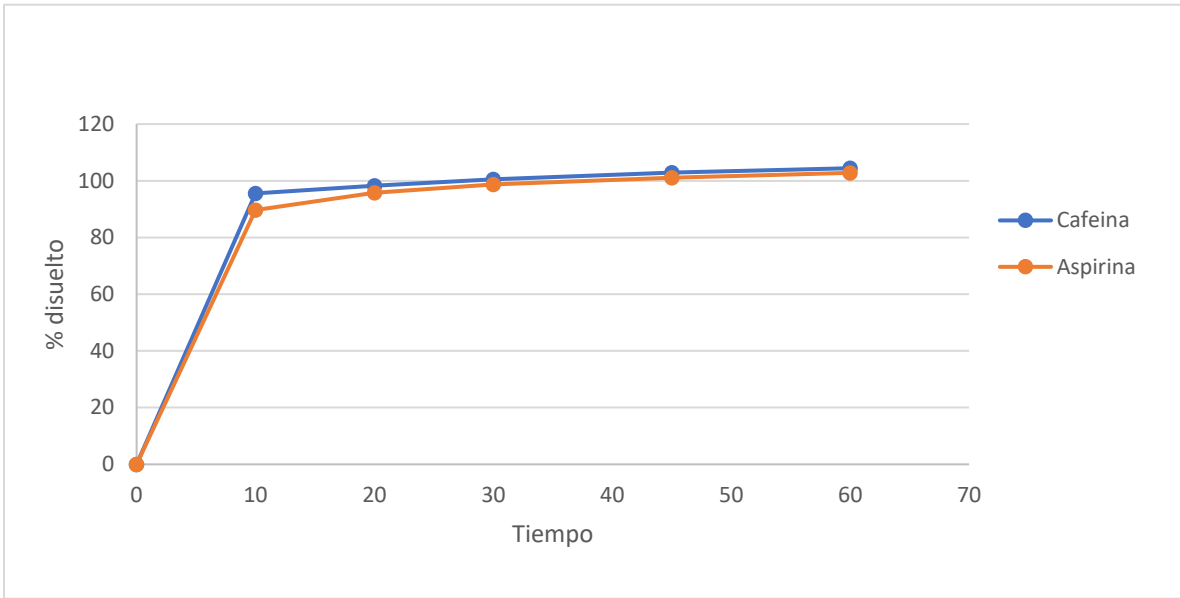


Figura 4 cafeína y Cafiaspirina(Bayer de Mexico SA de CV) de 500/30 mg perfil de disolución

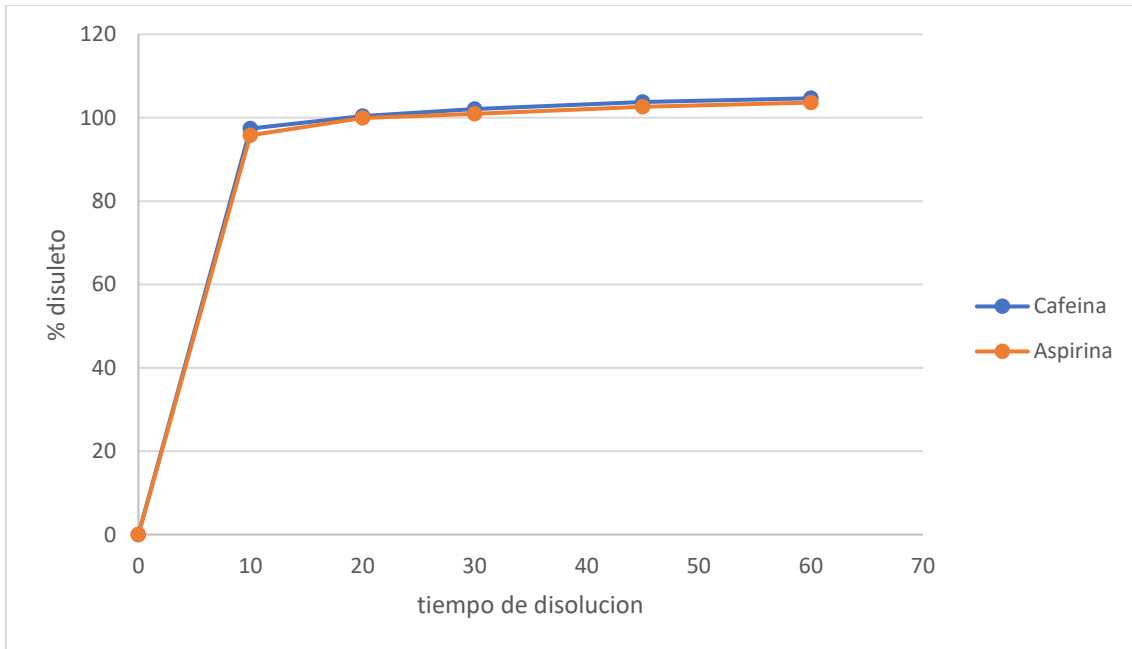


Figura 5 cafeína y Cafiaspirina Forte (Bayer de Mexico SA de CV) 650/65 mg perfil de disolucion

Perfil de disolución de CAF/AAS en aparato 4 dosis baja

Ap. 4 USP CAFEINA DOSIS BAJA				
tiempo	disuelto (%)	DE	CV	EE
0	0.00	0.00	0.00	0.00
10	95.52	3.26	3.41	0.94
20	98.20	1.95	1.99	0.56
30	100.46	1.72	1.71	0.50
45	102.91	1.35	1.31	0.39
60	104.42	0.93	0.89	0.27
Cafiaspirina(Bayer de Mexico SA de CV) 500/30 mg				
tiempo	disuelto (%)	DE	CV	EE
0	0.00	0.00	0.00	0.00
10	89.72	6.08	6.77	1.75
20	95.81	4.58	4.78	1.32
30	98.70	3.08	3.12	0.89
45	101.04	3.07	3.04	0.89
60	102.80	3.27	3.18	0.95

Tabla 5 perfil de disolución aparato cuatro de cafeína dosis baja y Cafiaspirina(Bayer de Mexico SA de CV) 500/30 mg

Perfil de disolución de CAF/AAS en aparato 4 dosis alta

Ap. 4 USP CAFEINA DOSIS ALTA				
tiempo	disuelto (%)	DE	CV	EE
0	0.00	0.00	0.00	0.00
10	97.37	2.16	2.22	0.62
20	100.38	1.93	1.92	0.56
30	102.05	1.16	1.14	0.34
45	103.79	0.81	0.78	0.23
60	104.65	1.30	1.24	0.37
Cafiaspirina Forte (Bayer de Mexico SA de CV) 650/65 mg				
tiempo	disuelto (%)	DE	CV	EE
0	0.00	0.00	0.00	0.00
10	95.80	3.21	3.35	0.93
20	99.94	1.98	1.98	0.57
30	100.92	2.16	2.14	0.62
45	102.62	1.68	1.64	0.49
60	103.62	1.52	1.46	0.44

Tabla 6 perfil de disolución APA 4 de cafeína dosis alta y Cafiaspirina Forte (Bayer de Mexico SA de CV) 650/65 mg

DISCUSIÓN

Los resultados indican que el método UV derivativo propuesto, para la cuantificación simultánea de AAS y CAF en tabletas es lineal, exacto y preciso.

Según guía complementaria ICH [20], el límite de detección y el límite de cuantificación son características que normalmente no se evalúan en los ensayos de disolución.

La RSD obtenida estuvo en el rango de 0.37-2,57% y el RE fue inferior al 2.90% para ambos fármacos en todos los porcentajes de dosis seleccionados, lo que indica una buena precisión del método.

Como se puede ver en la tabla 3, las soluciones AAS y CAF fueron menos estables a 25 °C.

Para ambos fármacos, se detectó una falta de linealidad, exactitud y precisión. Esta falta de linealidad, exactitud y precisión fueron encontradas en concentraciones fuera de los rangos propuestos de las curvas de calibración estándar.

Como se puede observar en la tabla de uniformidad de dosis se muestra que esta pasa los requerimientos ya los valores se mantienen entre 85 a 115% y 90 a 110% para cafeína y AAS.

Por otro lado, la comparación de perfiles de disolución no se requiere, dada la rápida disolución de los fármacos por las características fisicoquímicas de los mismos y adecuadas formulaciones, esto es una característica positiva de los productos dado que son de liberación inmediata.

CONCLUSIÓN

Para el desarrollo de este estudio se pudo determinar que el método utilizado resulto ser exacto preciso y lineal, así siendo útil para la determinación del rendimiento en una disolución *in vitro* en ambos medicamentos puestos a prueba; esto es una alternativa excelente ya que evita el requerimiento de un cromatógrafo para la separación de mezclas, siendo así menos costoso en aparatos e insumos.

Como se puede concluir también es que para determinar el estudio o comparativa contra HPLC con este estudio tendrían que realizar más pruebas comparativas entre dichos aparatos de disolución contra pruebas determinadas con HPLC para AAS/CAF esto así para determinar que estas pruebas de validación sean más precisas, exactas y lineales.

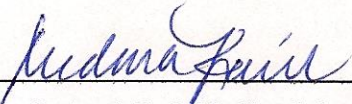
REFERENCIAS

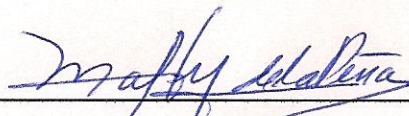
1. Kouskova L, Leitner J. DSC study of the system o-acetylsalicylic acid–caffeine and thermodynamic modelling of the system oacetylsalicylic acid–caffeine–paracetamol. *Thermochimica Acta*. 2019 Apr;674:63-7. doi: 10.1016/j.tca.2019.02.007.
2. Al-Malah KI. Optimization of drug solubility using aspen plus: acetylsalicylic acid (aspirin) solubility–A second case study. *Asian J Pharm Clin Res*. 2020 Apr 7;13(4):178-84. doi: 10.22159/ajpcr.2020.v13i4.37143.
3. Ghadimi H, MA Tehrani R, Basirun WJ, Ab Aziz NJ, Mohamed N, Ab Ghani S. Electrochemical determination of aspirin and caffeine at MWCNTs-poly-4-vinylpyridine composite modified electrode. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 2016 Aug;65:101-9. doi: 10.1016/j.jtice.2016.05.043.
4. Tavares C, Sakata RK. Caffeine in the treatment of pain. *Rev Bras Anesthesiol*. 2012 May-Jun;62(3):387-401. doi: 10.1016/S0034-7094(12)70139-3, PMID 22656684
5. Grama P, Oltea MP, Zah CA. Effect of caffeine in pain management. *Acta Marisiensis Ser Med*. 2020;66(3):127-31.
6. Dressman JB, Nair A, Abrahamsson B, Barends DM, Groot DW, Kopp S. Biowaiver monograph for immediate-release solid oral dosage forms: acetylsalicylic acid. *J Pharm Sci*. 2012 Aug;101(8):2653-67. doi: 10.1002/jps.23212, PMID 22674043.
7. Williams HD, Barrett DA, Ward R, Hardy IJ, Melia CD. A liquid chromatography method for quantifying caffeine dissolution from pharmaceutical formulations into colloidal, fat-rich media. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*. 2010 Jul 1;878(21):1739-45. doi: 10.1016/j.jchromb.2010.04.032, PMID 20483672.
8. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System; 2017. Available from: <https://collections.nlm.nih.gov/catalog/nlm:nlmuid101720038-pdf>.
9. United States Pharmacopeia and national formulary USP43- NF38; The United States pharmacopeial convention. Rockville, MD: Inc; 2020.
10. Yadav S, Rao J. RP-HPLC method for simultaneous estimation of aspirin, ramipril, hydrochlorothiazide, simvastatin and atenolol from pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014 Sep 1;6(9):443-8.
11. Pisal P, Nigade G, Kale A, Pawar S. Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of aspirin, rosuvastatin, clopidogrel in bulk and pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2018 Oct 1;10(10):51-6. doi: 10.22159/ijpps.2018v10i10.28329.
12. Martin MJ, Pablos F, Gonzalez AG. Simultaneous determination of caffeine and non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulations and blood

- plasma by reversed phase HPLC from linear gradient elution. *Talanta*. 1999 Jun 14;49(2):453-9. doi: 10.1016/S0039-9140(99)00006-5, PMID 18967618.
13. Moreira AB, Dias ILT, Neto GO, Zagatto EAG, Ferreira MMC, Kubota LT. Solid-phase spectrofluorimetric determination of acetylsalicylic acid and caffeine in pharmaceutical preparations using partial least-squares multivariate calibration. *Talanta*. 2005 Jul 15;67(1):65-9. doi: 10.1016/j.talanta.2005.02.004, PMID 18970138.
 14. Faria EO, Lopes Junior ACV, Souto DEP, Leite FRF, Damos FS, de Cassia Silva Luz R. Simultaneous determination of caffeine and acetylsalicylic acid in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond film electrode by differential pulse voltammetry. *Electroanalysis*. 2012 May;24(5):1141-6. doi: 10.1002/elan.201200018.
 15. Goyal RN, Bishnoi S, Agrawal B. Electrochemical sensor for the simultaneous determination of caffeine and aspirin in human urine samples. *J Electroanal Chem*. 2011 Jun;655(2):97-102. doi: 10.1016/j.jelechem.2011.03.008.
 16. Sanchez Rojas F, Bosch Ojeda C. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004-2008: a review. *Anal Chim Acta*. 2009 Mar 2;635(1):22- 44. doi: 10.1016/j.aca.2008.12.039, PMID 19200476.
 17. FDA, 1995, Center for Drug Evaluation and Research, Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Scale-up and Post-Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, *In Vitro* Dissolution Testing, and *In Vivo* Bioequivalence Documentation [Guía para la industria: formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. Cambios de aumento en escala y posteriores a la aprobación: química, fabricación y controles, pruebas de disolución *in vitro* y documentación de bioequivalencia *in vivo*] [SUPAC-IR], Noviembre de 1995.
 18. Lotfy HM, Saleh SS. Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006-2016): a review. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016 Aug;8(10):40-56. doi: 10.22159/ijpps.2016v8i10.13537.
 19. Aulton ME. *Farmacía: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. segunda ed. España: Elsevier; 2004.
 20. ICH. Harmonised tripartite guideline. Q2B validation of analytical procedures: methodology; 1996. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fdaguidance-documents/q2b-validation-analytical-proceduresmethodology>.
 21. Podczeczek F. Comparison of *in vitro* dissolution profiles by calculating mean dissolution time (MDT) or mean residence time (MRT). *Int J Pharm*. 1993 Aug 15;97(1-3):93-100. doi: 10.1016/0378-5173(93)90129-4.
 22. Anderson NH, Bauer M, Boussac N, Khan Malek R, Munden P, Sardaro M. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of *in vitro*

- dissolution profiles. *J Pharm Biomed Anal.* 1998 Aug;17(4-5):811-22. doi: 10.1016/s0731-7085(98)00011-9, PMID 9682166.
23. Cardot JM, Beyssac E, Alric M. *In vitro-in vivo* correlation: importance of dissolution in IVVC. *Diss Technol.* 2007 Feb;14(1):15-9. doi: 10.14227/DT140107P15.
24. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Zou A, Li W, Yao C. DD Solver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *AAPS J.* 2010 Sep;12(3):263-71. doi: 10.1208/s12248-010-9185-1, PMID 20373062.
25. Cárdenas Hilda y Cortés Alma (1996). Aspectos biofarmaceuticos de la evaluación de medicamentos, 1° edición, Edit. UAM-X, México, p. 46-48,69-73,89-91.
26. R. Gennaro Alfonso. (2003) Remington Farmacia, 20° edición, Tomo 2. Editorial Médica Panamericana. Argentina. p. 1690-1691.
27. Shah, V.P., et al., (1989). *In Vitro* Dissolution Profile of Water Insoluble Drug Dosage Forms in the Presence of Surfactants, *Pharmaceutical Research*, 6; p. 612-618.
28. Vecina, F. (2002). Guidance For Disolution Testing of oral Immediate Release Dosage Forms. *Official Journal*, Volumen II, P1-25.

Vo. Bo. de los asesores respecto a los contenidos académicos


M. en C. José Raúl Medina López


M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

División de Ciencias Biológicas y de la Salud Departamento de Sistemas Biológicos

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe de actividades del Servicio Social: Identificación de analgésicos no esteroides y cafeína por UV y/o HPLC

Proyecto genérico correspondiente a: Evaluación de productos relacionados con la salud.

Alumno: Omar Alejandro González Salazar

Domicilio: calle Norte 10 #1013 Col. Santa Cruz Valle de Chalco Solidaridad Edo de Mexico

Teléfono: 5510647616

Matrícula: 2143059074

Asesores: M. en C. José Raúl Medina López
M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña

Lugar de realización: Laboratorios de Farmacocinética y Farmacodinamia N-102 y N-012 de UIDIS, Universidad Autónoma Metropolitana; Unidad Xochimilco.

Fecha de inicio del proyecto: 25 de septiembre de 2019

Fecha de término del proyecto: 25 de marzo de 2020

JUNIO, 2023

RESUMEN

INTRODUCCION

Medicamentos con la combinación de ácido acetilsalicílico (AAS) y otros fármacos analgésicos y la cafeína (CAF) están ampliamente disponibles alrededor del mundo. El estudio de las interacciones de estos compuestos y excipientes pueden afectar seriamente algunas propiedades tecnológicas durante la fabricación, así como la solubilidad, velocidad de disolución y biodisponibilidad, todavía es investigada por varios autores [1, 2]. El AAS es un fármaco comúnmente utilizado en el tratamiento de la fiebre, dolor de cabeza y enfermedades cardiovasculares [3]. La CAF es clínicamente seguro y su efecto sobre el dolor, varios autores han informado sobre su manejo [4, 5].

Según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB), el AAS es un fármaco de clase I (alta solubilidad/alta permeabilidad) [6] mientras que CAF tiene buena solubilidad acuosa independiente del pH fisiológico rango (~50 mg/ml) [7]. Basado en datos científicos publicados anteriormente, se puede recomendar un procedimiento de bioexención basado en BCS para la aprobación de nuevas formulaciones de formas sólidas de dosificación oral que contiene AAS como único ingrediente farmacéutico activo [6]. Por otro lado, solo las formulaciones de combinaciones de dosis fijas que contenga BCS clase I o clase III, o una combinación de clase I y la clase III puede ser candidata para una bioexención [8], por lo que este enfoque es no aplicable para tabletas AAS/CAF hasta la fecha, CAF no ha sido clasificado.

La prueba de disolución oficial para tabletas AAS se describe en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP). El método indica el uso del Aparato 1 (canastilla) a 50 rpm y 1000 ml de solución amortiguadora de acetato 0.05 M pH 4.5 como medio de disolución. En estas condiciones, no menos del 80% del fármaco debe disolverse en 30 min [9]; Sin embargo, La prueba de disolución oficial para tabletas AAS/CAF todavía está disponible en análisis cromatográfico para mezclas compuestas de AAS y agentes antihipertensivos, antiplaquetarios o antitrombóticos, así como CAF combinado con algunos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), han sido desarrollados por varios autores [10-12].

Específicamente, para la mezcla de AAS y CAF en productos farmacéuticos para formulaciones espectrofluorométricas [13] y electroquímicas [3, 14] se han publicado las determinaciones. El análisis electroquímico también se ha propuesto para la cuantificación simultánea de AAS y CAF en muestras de orina humana [15]. Se han sugerido algunas técnicas para el tratamiento de datos espectrofotométricos de espectros compuesto por bandas no resueltas [16-18]; sin embargo, un método UV derivativo para la identificación simultánea de AAS y CAF es no incluido.

En el presente estudio, se proponen un método UV derivativo rápido y simple mediciones en los puntos de cruce por cero para la determinación de AAS y CAF

en una formulación comercial (tabletas de liberación inmediata). Para verificar la aplicabilidad de este procedimiento, el método se utilizó para determinar el perfil de disolución *in vitro* cada fármaco usando el USP Aparato 2 (paleta) a 75 rpm y solución amortiguadora de fosfato 0.1 M pH 7.4 como medio de disolución. El objetivo es tener un método confiable y fácil para determinar AAS y CAF utilizando recursos analíticos limitados. Los resultados se compararon con datos publicados.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

General

Identificar paracetamol y/o ácido acetilsalicílico combinado con cafeína por espectrofotometría derivativa y/o cromatografía de líquidos.

Específicos

- Realizar pruebas preliminares de identificación y cuantificación de paracetamol y/o ácido acetil salicílico combinados con cafeína por métodos espectroscópicos o cromatográficos.
- Realizar las pruebas de valoración y uniformidad de dosis a los medicamentos en estudio.
- Determinar los perfiles de disolución de comprimidos con paracetamol y/o ácido acetil salicílico con cafeína en el sistema de celda de flujo continuo.

CONCLUSIONES

Para el desarrollo de este estudio se pudo determinar que el método utilizado resulto ser exacto preciso y lineal, así siendo útil para la determinación del rendimiento en una disolución *in vitro* en ambos medicamentos puestos a prueba.

Como se puede concluir también es que para determinar el estudio o comparativa de HPLC con este estudio tendrían que realizar más pruebas comparativas entre dichos aparatos de disolución contra pruebas determinadas con HPLC para AAS/CAF esto así para determinar que estas pruebas de validación sean más precisas, exactas y lineales.

REFERENCIAS

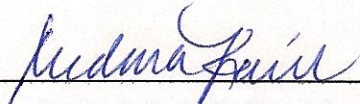
29. Kouskova L, Leitner J. DSC study of the system o-acetylsalicylic acid–caffeine and thermodynamic modelling of the system oacetylsalicylic acid–caffeine–paracetamol. *Thermochemica Acta*. 2019 Apr;674:63-7. doi: 10.1016/j.tca.2019.02.007.

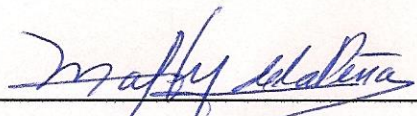
30. Al-Malah KI. Optimization of drug solubility using aspen plus: acetylsalicylic acid (aspirin) solubility—A second case study. *Asian J Pharm Clin Res.* 2020 Apr 7;13(4):178-84. doi: 10.22159/ajpcr.2020.v13i4.37143.
31. Ghadimi H, MA Tehrani R, Basirun WJ, Ab Aziz NJ, Mohamed N, Ab Ghani S. Electrochemical determination of aspirin and caffeine at MWCNTs-poly-4-vinylpyridine composite modified electrode. *J Taiwan Inst Chem Eng.* 2016 Aug;65:101-9. doi: 10.1016/j.jtice.2016.05.043.
32. Tavares C, Sakata RK. Caffeine in the treatment of pain. *Rev Bras Anesthesiol.* 2012 May-Jun;62(3):387-401. doi: 10.1016/S0034-7094(12)70139-3, PMID 22656684
33. Grama P, Oltea MP, Zah CA. Effect of caffeine in pain management. *Acta Marisiensis Ser Med.* 2020;66(3):127-31.
34. Dressman JB, Nair A, Abrahamsson B, Barends DM, Groot DW, Kopp S. Biowaiver monograph for immediate-release solid oral dosage forms: acetylsalicylic acid. *J Pharm Sci.* 2012 Aug;101(8):2653-67. doi: 10.1002/jps.23212, PMID 22674043.
35. Williams HD, Barrett DA, Ward R, Hardy IJ, Melia CD. A liquid chromatography method for quantifying caffeine dissolution from pharmaceutical formulations into colloidal, fat-rich media. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2010 Jul 1;878(21):1739-45. doi: 10.1016/j.jchromb.2010.04.032, PMID 20483672.
36. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System; 2017. Available from: <https://collections.nlm.nih.gov/catalog/nlm:nlmuid101720038-pdf>.
37. United States Pharmacopeia and national formulary USP43- NF38; The United States pharmacopeial convention. Rockville, MD: Inc; 2020.
38. Yadav S, Rao J. RP-HPLC method for simultaneous estimation of aspirin, ramipril, hydrochlorothiazide, simvastatin and atenolol from pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014 Sep 1;6(9):443-8.
39. Pisal P, Nigade G, Kale A, Pawar S. Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of aspirin, rosuvastatin, clopidogrel in bulk and pharmaceutical dosage form. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2018 Oct 1;10(10):51-6. doi: 10.22159/ijpps.2018v10i10.28329.
40. Martin MJ, Pablos F, Gonzalez AG. Simultaneous determination of caffeine and non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulations and blood plasma by reversedphase HPLC from linear gradient elution. *Talanta.* 1999 Jun 14;49(2):453-9. doi: 10.1016/S0039-9140(99)00006-5, PMID 18967618.
41. Moreira AB, Dias ILT, Neto GO, Zagatto EAG, Ferreira MMC, Kubota LT. Solid-phase spectrofluorimetric determination of acetylsalicylic acid and caffeine in pharmaceutical preparations using partial least-squares multivariate calibration.

- Talanta. 2005 Jul 15;67(1):65-9. doi: 10.1016/j.talanta.2005.02.004, PMID 18970138.
42. Faria EO, Lopes Junior ACV, Souto DEP, Leite FRF, Damos FS, de Cassia Silva Luz R. Simultaneous determination of caffeine and acetylsalicylic acid in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond film electrode by differential pulse voltammetry. *Electroanalysis*. 2012 May;24(5):1141-6. doi: 10.1002/elan.201200018.
 43. Goyal RN, Bishnoi S, Agrawal B. Electrochemical sensor for the simultaneous determination of caffeine and aspirin in human urine samples. *J Electroanal Chem*. 2011 Jun;655(2):97-102. doi: 10.1016/j.jelechem.2011.03.008.
 44. Sanchez Rojas F, Bosch Ojeda C. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004-2008: a review. *Anal Chim Acta*. 2009 Mar 2;635(1):22- 44. doi: 10.1016/j.aca.2008.12.039, PMID 19200476.
 45. FDA, 1995, Center for Drug Evaluation and Research, Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Scale-up and Post-Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, *In Vitro* Dissolution Testing, and *In Vivo* Bioequivalence Documentation [Guía para la industria: formas de dosificación oral sólidas de liberación inmediata. Cambios de aumento en escala y posteriores a la aprobación: química, fabricación y controles, pruebas de disolución *in vitro* y documentación de bioequivalencia *in vivo*] [SUPAC-IR], Noviembre de 1995.
 46. Lotfy HM, Saleh SS. Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006-2016): a review. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016 Aug;8(10):40-56. doi: 10.22159/ijpps.2016v8i10.13537.
 47. Aulton ME. *Farmacía: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. segunda ed. España: Elsevier; 2004.
 48. ICH. Harmonised tripartite guideline. Q2B validation of analytical procedures: methodology; 1996. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fdaguidance-documents/q2b-validation-analytical-proceduresmethodology>.
 49. Podczeck F. Comparison of *in vitro* dissolution profiles by calculating mean dissolution time (MDT) or mean residence time (MRT). *Int J Pharm*. 1993 Aug 15;97(1-3):93-100. doi: 10.1016/0378-5173(93)90129-4.
 50. Anderson NH, Bauer M, Boussac N, Khan Malek R, Munden P, Sardaro M. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of *in vitro* dissolution profiles. *J Pharm Biomed Anal*. 1998 Aug;17(4-5):811-22. doi: 10.1016/s0731-7085(98)00011-9, PMID 9682166.
 51. Cardot JM, Beyssac E, Alric M. *In vitro-in vivo* correlation: importance of dissolution in IVVC. *Diss Technol*. 2007 Feb;14(1):15-9. doi: 10.14227/DT140107P15.

52. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Zou A, Li W, Yao C. DD Solver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *AAPS J.* 2010 Sep;12(3):263-71. doi: 10.1208/s12248-010-9185-1, PMID 20373062.
53. Cárdenas Hilda y Cortés Alma (1996). Aspectos biofarmaceuticos de la evaluación de medicamentos, 1° edición, Edit. UAM-X, México, p. 46-48,69-73,89-91.
54. R. Gennaro Alfonso. (2003) Remington Farmacia, 20° edición, Tomo 2. Editorial Médica Panamericana. Argentina. p. 1690-1691.
55. Shah, V.P., et al., (1989). *In Vitro* Dissolution Profile of Water Insoluble Drug Dosage Forms in the Presence of Surfactants, *Pharmaceutical Research*, 6; p. 612-618.
56. Vecina, F. (2002). Guidance For Disolution Testing of oral Immediate Release Dosage Forms. *Official Journal*, Volumen II, P1-25.

Vo. Bo. de los asesores respecto a los contenidos académicos


M. en C. José Raúl Medina López


M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña