



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

Propuesta de una formulación cosmecéutica  
en gel con cafeína.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

**ARACELI DEL CARMEN MORALES REZA**

Director:

M. en F. Idalia L. Flores Gómez

Asesor:

M. en F. Leticia Huerta Flores

MÉXICO, D.F.

Octubre 2012





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 DESARROLLO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

El objetivo de la investigación y desarrollo farmacéutico es simplemente el convertir ideas en fármacos candidatos para el desarrollo de nuevos productos o presentaciones.

Las consideraciones que se deben tomar en el diseño de un producto es la realización de un reporte que evalúe cuidadosamente los siguientes elementos:

- Perfil objetivo del producto.
- Especificaciones de diseño y los parámetros críticos de calidad.
- Consideraciones comerciales y de mercado.
- Publicación de técnicas de evaluación de los riesgos.
- Consideraciones de seguridad, salud y ambientales (Gibson, 2001).

#### 1.1.1 Fases del Desarrollo Farmacéutico

Durante el desarrollo farmacéutico se consideran básicamente las siguientes etapas o fases:

- Revisión bibliográfica.
- Estudio de preformulación.
- Estudio de formulación.
- Escalamiento del producto.
- Pruebas de estabilidad (Gibson, 2001).

##### 1.1.1.1. PREFORMULACIÓN

La etapa de preformulación comienza al investigar las propiedades físicas y químicas fundamentales de la molécula del fármaco o principio activo a utilizar. De esta información dependen muchos de los pasos y métodos utilizados posteriormente en el desarrollo del preparado. Esta etapa se divide en tres:

- A. *Caracterización fisicoquímica del principio activo*: dentro de esta clasificación se realiza la determinación de la estructura química, ayudándose de estudios como el Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear (RMN), Ultravioleta, Cromatografía de líquidos (HPLC), espectroscopia de masas, etc.; la presencia de humedad, ya



sea por pérdida al secado o en Karl Fisher; solubilidad, la cual se puede determinar mediante la clasificación biofarmacéutica de los principios activos, métodos de disolución o el método farmacopéico; el coeficiente de reparto; polimorfismo mediante CDB, análisis termogravimétrico o difracción de rayos x; y por último la higroscopicidad, y esta se evalúa de acuerdo a la Guía Técnica de la Farmacopea Europea o según Callaghan.

- b. *Estabilidad del principio activo en solución y en sólido*: es de suma importancia conocer la estabilidad física y química de los compuestos candidatos a fármacos, ya que depende de este parámetro si se podrá obtener una formulación estable con un tiempo de vida aceptable en el mercado para este producto. En este paso se debe de obtener la principal ruta de degradación del principio activo y su velocidad de la misma. De este estudio se podrá determinar la forma farmacéutica y se propondrán excipientes adecuados para realizar una buena formulación. Los parámetros en esta parte abarcan la hidrólisis, oxidación o reducción y fotosensibilidad.
- c. *Compatibilidad principio activo-excipientes y excipientes-excipientes*: se puede realizar una mezcla binaria que incluya por partes iguales al principio activo y al excipiente, o una mezcla múltiple o formulación prototipo, en la que se varíe el contenido o del principio activo o del excipiente (Aulton, 2004).

Hay cuatro pasos a considerar en esta etapa: preparación de la muestra, diseño estadístico, condiciones de almacenamiento, método de análisis (Gibson, 2001).



- Consideraciones en la preformulación.

Durante el estudio de preformulación deberán considerarse varios parámetros, que conllevan a la selección de la presentación química y física más conveniente, estos son:

Nombre químico.

Estructura química.

Propiedades reológicas.

- Forma de la partícula
- Tamaño de partícula
- Densidad aparente
- Densidad compactada
- Índice de Carr
- Índice de Haussner
- Angulo de reposo
- Velocidad de flujo

Características físicas.

- Apariencia
- Color
- Olor
- Sabor
- Textura

Características fisicoquímicas.

- Humedad
- Higroscopicidad
- Coefficiente de partición y pka
- Solubilidad
- pH
- Polimorfismo
- Grado de hidratación
- Propiedades del cristal
- Identidad
- Punto de fusión
- Rotación óptica

Valoración y determinación de compuestos relacionados.

Estabilidad del principio activo en estado sólido.

Compatibilidad del principio activo en los excipientes. (Gibson 2001).



### 1.1.1.2. FORMULACIÓN

#### DEFINICIÓN:

Comprende aquellas pruebas que se realizan variando los porcentajes de los excipientes para ver el efecto que estos tienen en la formulación hasta llegar a las proporciones adecuadas para que la forma farmacéutica cumpla con los requisitos establecidos para el producto (Manual de Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, 2009).

La selección del tipo de formulación para productos transdérmicos sistémicos, los cuales son diseñados para la aplicación en piel no dañada, debe de ser entonces un parche o una preparación semisólida, que libere cantidades terapéuticas del fármaco dentro de la circulación sistémica. Por otra parte la selección de una formulación del tipo dermatológico es influenciada en la mayoría de los casos por la naturaleza de la piel lesionada. En general las preparaciones como las pastas son extemporáneas, y en la industria farmacéutica es evidente que se requerirá de un desarrollo de estabilidad, seguridad y eficacia para esta clase de productos (Gibson, 2001)

## 1. 2 FORMA FARMACÉUTICA

Producto resultante del proceso tecnológico que confiere al medicamento características adecuadas como: una correcta dosificación, eficacia terapéutica y estabilidad en el tiempo.

### 1.2.1 Geles

DEFINICIÓN: Preparación semisólida, que contiene el o los fármacos y aditivos, constituido por lo general por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite, que forman una red que atrapa al líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto son preparaciones viscosas. (FEUM 9ª Ed., 2008)

Son sistemas semisólidos de dos componentes ricos en líquido. Su característica común es la presencia de una estructura continua con propiedades de sólido. En un gel polar típico, un polímero sintético o natural constituye una matriz tridimensional a través de un líquido hidrofílico. (Aulton, 2004)



Los sistemas sólidos o semisólidos así formados están interpenetrados por un líquido. Las partículas se unen formando una malla entrelazada que confiere rigidez a la estructura; las mallas mantienen en su interior la fase continua. Un gel rico en líquido suele recibir el nombre de gelatina; si se elimina el líquido y solo se conserva la estructura del gel, se denomina xerogel.

Gelificación de soles liófilos. Los geles pueden ser soles liófilos flocculados en los que pueden considerarse que el gel forma un flóculo continuo. Las fuerzas que mantienen unidas las partículas en este tipo de gel son relativamente débiles: fuerzas de Van der Waals.

Gelificación de soles liofílicos. Los geles formados por soles liofílicos pueden dividirse en dos grupos, dependiendo de la naturaleza de los enlaces entre las cadenas de la retícula. Los geles de tipo I son sistemas irreversibles con una retícula tridimensional formada por enlaces covalentes entre las macromoléculas. Se usan para fabricar implantes que liberan fármacos, como antibióticos, de forma prolongada a las zonas próximas del implante.

Los geles de tipo II se mantienen unidos por enlaces intermoleculares mucho más débiles, como los enlaces de hidrógeno. Estos geles son termorreversibles y pasan de sol a gel al calentarlos o enfriarlos. (Aulton, 2004)

#### VENTAJAS:

- Estado semisólido
- Alto grado de claridad
- Facilidad de preparación
- Facilidad de remoción y uso
- Proveen una rápida liberación del fármaco

#### DESVENTAJAS:

- Al contener fases acuosas las bacterias y hongos pueden atacarlos

El que un principio activo se adsorba, penetre, sea permeable a la piel o se absorba, depende de las propiedades fisicoquímicas del mismo, tales como:

- Solubilidad en el agua.



- Coeficiente de reparto lípido-agua.
- Constante de disociación.
- Estructura química.
- Peso molecular.

Además, depende de las propiedades del principio activo una vez que éste se encuentre incorporado en una forma farmacéutica, por ejemplo el pH y la naturaleza del vehículo, así como del tipo de barrera que va a atravesar, la cual puede presentar variaciones morfológicas y funcionales y otras tales como presencia de cargas eléctricas.

En el lugar de absorción el principio activo debe atravesar una barrera lipídica, la cual puede ser compleja como la piel o el epitelio intestinal. (Del Pozo, 2006)

#### 1.2.2 Formulación de geles

En el diseño de un gel es indispensable seleccionar la formulación que presente características organolépticas y reológicas idóneas para su administración tópica, es decir, con extensibilidad y textura apropiadas. Es también importante asegurarse de que la preparación sea estéticamente aceptable para el paciente y fácil de utilizar.

Existen varios factores que se deben tener en cuenta:

- Elección del principio activo adecuado
- Elección de la forma farmacéutica y excipientes idóneos.
- Consideración de los efectos dermatológicos del vehículo

Pueden clasificarse según aparece a continuación:

- Orgánicos o inorgánicos en la naturaleza.
- Acuosa (hidrogeles) u orgánica (organogeles), según si el componente acuoso es agua o algún disolvente orgánico.
- Coloidales
- Geles rígidos, elásticos o tixotrópicos, según sus propiedades mecánicas.



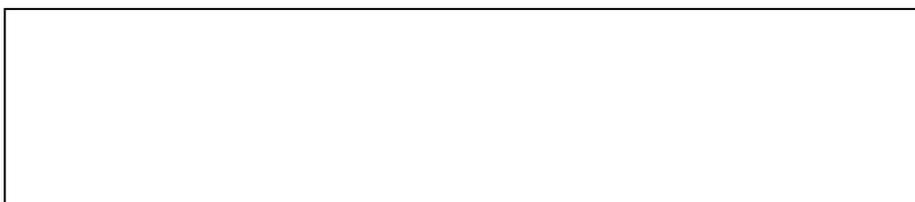
Para la selección adecuada de los mismos deben reunir las siguientes características generales:

- pH: Debe ser neutro o débilmente ácido, lo más parecido al de la piel.
- Estabilidad física y química, así como compatibilidad con los principios activos que se incorporan
- Propiedades reológicas: Deben proporcionar al preparado una adecuada extensibilidad y adaptabilidad a la superficie y cavidades cutáneas. Para ello es recomendable que posean flujos de tipo plástico-tixotrópico, caracterizados por un aumento de la fluidez durante la aplicación, seguida de una recuperación de la textura inicial después de extendido el medicamento, lo que permite mantenerlo localizado y adherido en la zona.
- La posibilidad de ser eliminados de la zona tratada mediante simple lavado.
- No deben manchar, en la medida de lo posible, ni la piel ni los tejidos.
- No deben presentar efectos de irritación primaria ni de hipersensibilización. (Del Pozo, 2006)

### 1. 3 PIEL

La piel, con una superficie de  $1,8 \text{ m}^2$  en una persona adulta, recubre el cuerpo junto con las membranas mucosas de los orificios corporales. Es una barrera contra los agentes físicos, químicos y biológicos, manteniendo la integridad y homeostasis del cuerpo y realizando muchas otras funciones fisiológicas.

La piel consta básicamente de tres capas: la epidermis, la piel propiamente dicha (dermis) y el tejido subcutáneo (hipodermis). (Charlet, 1996)



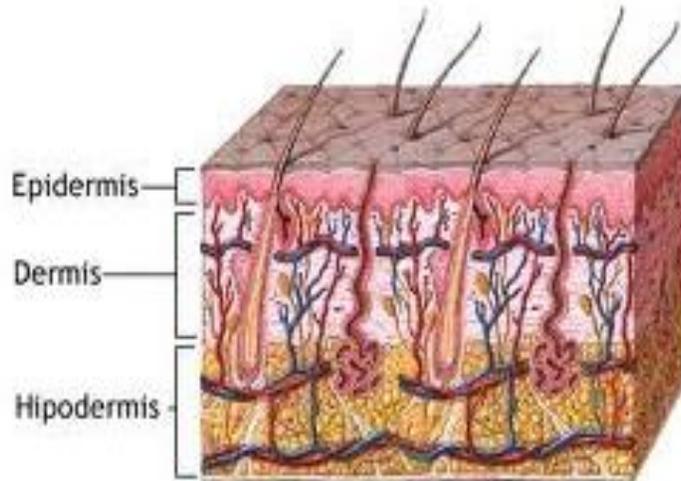


FIGURA 1. Partes de la piel (Charlet, 1996)

Desde el punto de vista toxicológico la que más nos interesa aquí es la epidermis. Está constituida por muchas capas de células. La capa superior es una superficie irregular de células muertas aplanadas (estrato córneo), bajo la cual hay una capa continua de células vivas (estrato córneo compacto) seguida de una típica membrana lipídica y después por los estratos lúcido, granuloso y mucoso. La membrana lipídica es una barrera protectora, pero en las partes de la piel con vello penetran por ella tanto los folículos pilosos como los canales de las glándulas sudoríparas.

### 1.3.1 Tipos de Absorción

- Absorción transepidérmica por difusión a través de la membrana lipídica, sobre todo de sustancias lipófilas y en pequeña medida de algunas sustancias hidrófilas a través de los poros.
- Absorción transfolicular alrededor del tallo del pelo hasta penetrar en el folículo piloso, evitando así la barrera de la membrana; esta absorción se produce únicamente en las zonas de la piel que tienen vello.
- Absorción a través de los conductos de las glándulas sudoríparas, que tienen una sección transversal de entre el 0,1 y el 1 % aproximadamente de la superficie total de piel.



- Absorción a través de la piel cuando ésta sufre lesiones mecánicas, térmicas o químicas o por enfermedades cutáneas; en esos casos se produce una horadación de las capas de la piel, incluida la barrera lipídica, lo que abre la puerta a la entrada de agentes tóxicos y nocivos.

La velocidad de absorción percutánea depende de muchos factores:

- La concentración del fármaco
- El tipo de vehículo
- Presencia de otras sustancias (Balsam, 1974)

#### 1. 4 COSMECÉUTICOS

El término Cosmecéuticos fue mencionado por primera vez en 1970, cuando el dermatólogo americano Albert Kligman, los definió como "Agentes tópicos que tienen tanto una función cosmética como terapéutica". Por primera vez se proponía una estrecha relación entre la categoría de cosméticos y la de fármacos.

El concepto antiguo de los cosméticos era la utilización de ingredientes inertes para cubrir agentes y mejorar la apariencia visual. No había inclusión con la toxicidad sistémica ya que la piel tiene propiedades como barrera y se asumía que nada podía permear a través de la piel. La línea entre los cosméticos y los farmacéuticos se ha convertido en una zona gris conforme se agregan más ingredientes activos a los cosméticos. Estos ingredientes activos son llamados cosmecéuticos.

Al igual que los cosméticos, los cosmecéuticos también se aplican de forma tópica, pero éstos contienen ingredientes naturales que influyen en la función biológica y salud de la piel. Los cosmecéuticos liberan nutrientes naturales que son incorporados en las células de la piel, en sus diferentes capas, logrando mejorar sus funciones, aumentar su vitalidad y evitando su deterioro y envejecimiento precoz. (Barel, 2001)



Los principales requisitos de un producto cosmeceútico son:

Los principios activos deben estar claramente definidos por su capacidad de influir positivamente sobre la piel sana para mejorar su apariencia.

Su formulación ha de ser capaz de garantizar la integridad del principio activo hasta su liberación en la piel. Esto remarca la importancia de los agentes vehiculizantes que permitan un transporte adecuado.

La prescripción de un cosmeceútico la debe hacer un profesional acreditado, ya que la aplicación de los principios activos que contiene tiene un tiempo limitado de aplicación y ésta debe hacerse sobre el tipo de piel requerida.

## 1. 5 CAFÉINA

- Estructura Química

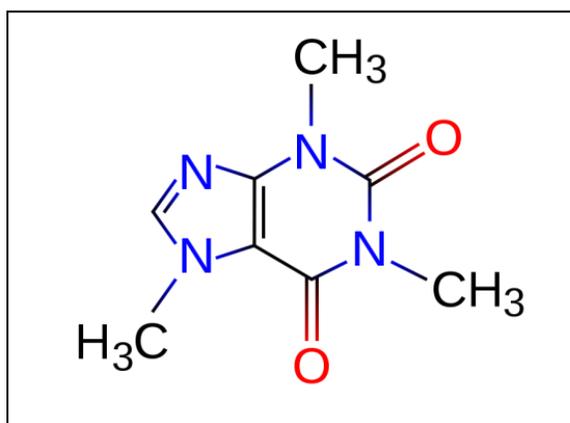


FIGURA 2. Estructura química de la cafeína. (Martindale, 2007)

- Propiedades Físicoquímicas

Fórmula condensada:  $C_8H_{10}N_4O_2$

Peso molecular: 194.2 g/mol.

Densidad: 1.230 g/cm<sup>3</sup>

Punto de fusión: 226.85 °C (Martindale, 2007)



Es un polvo cristalino blanco o cristales blancos sedosos, sublima con facilidad.

Bastante soluble en agua; fácilmente soluble en agua en ebullición; poco soluble en alcohol absoluto y éter. Se disuelve en soluciones concentradas de benzoatos y salicilatos (Europea Pharmacopeia, 1969).

La cafeína es anhidra o contiene una molécula de agua de hidratación, el cual es un polvo blanco inodoro, agujas brillantes blancas, habitualmente apiladas. La forma hidratada es eflorescente al aire, y es soluble 1 parte en 50 de agua, 1 parte en 75 de alcohol, 1 parte en 6 de cloroformo y 1 parte en 600 mL de éter. (USP, 2004).

- Propiedades Farmacológicas

La cafeína es una metilxantina que inhibe la fosfodiesterasa y tiene un efecto antagonista sobre los receptores centrales de la adenosina. Es un estimulante del SNC, particularmente de los centros superiores, puede producir insomnio y actividad mental. También estimula el centro respiratorio, incrementando la frecuencia y profundidad de la respiración. La cafeína facilita el rendimiento y aumenta la capacidad del trabajo muscular. (Martindale, 2007).

- Precauciones

El consumo elevado y prolongado de cafeína produce tolerancia a algunas de sus acciones farmacológicas y se producen signos de abstinencia física, como irritabilidad, letargia y cefalea si se suspende el consumo bruscamente. (Martindale, 2007).

- Interacciones

Está sometida a un amplio metabolismo por el citocromo P450 de los microsomas hepáticos y por ello está sujeta a numerosas interacciones con otros fármacos y sustancias que aumentan o reducen su aclaramiento metabólico. (Martindale, 2007).

- Farmacocinética

La cafeína se absorbe fácilmente tras su administración oral y se distribuye ampliamente por el organismo. También se absorbe a través de la piel. Fácilmente alcanza el SNC y la saliva, y se detectan pequeñas concentraciones en la leche materna. (Martindale, 2007).



- Metabolismo y Excreción

En adultos la cafeína se metaboliza casi por completo en el hígado mediante oxidación, desmetilación y acetilación, y se excreta por la orina con solo un 1% del fármaco inalterado (Martindale, 2007).

- Toxicidad

DL<sub>50</sub> 192 mg/kg (rata, oral)

### 1. 6 NORMATIVIDAD

Los cosméticos presentan diferentes definiciones las cuales se citan a continuación, de acuerdo a la normatividad consultada:

REFERENCIA	CONTENIDO
Ley general de salud. CAPÍTULO IX	<p><b>Artículo 269.</b> Para los efectos de esta Ley, se consideran productos cosméticos las sustancias o formulaciones destinadas a ser puestas en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos, o con los dientes y mucosas bucales con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, ayudar a modificar su aspecto, protegerlos, mantenerlos en buen estado o corregir los olores corporales o atenuar o prevenir deficiencias o alteraciones en el funcionamiento de la piel sana.</p> <p>No se considerará producto cosmético una sustancia o mezcla destinada a ser ingerida, inhalada, inyectada o implantada en el cuerpo humano.</p> <p>En la elaboración de productos cosméticos se podrán utilizar de manera inmediata aquellas sustancias que hayan sido evaluadas y aprobadas por la Secretaría.</p> <p><b>Artículo 270.</b> No podrán atribuirse a los</p>



	<p>productos cosméticos acciones propias de los medicamentos, tales como curar o ser una solución definitiva de enfermedades, regular el peso o combatir la obesidad ya sea en el nombre, indicaciones, instrucciones para su empleo o publicidad.</p>
NOM-141-SSA1-1995	<p><b>Productos de perfumería y belleza.</b> Aquellos destinados para su aplicación directa a la piel sana, anexos y faneras con la finalidad de embellecer, mejorar la apariencia y conservar la limpieza o pulcritud de las personas.</p>
FDA, 2011	<p>Objetos destinados a ser frotados, vertidos o rociados, o aplicados en aerosol, introducirse o aplicarse de otra forma en el cuerpo humano, para limpiar, embellecer fomentar la atracción o alterar la apariencia. Incluyen lápices labiales, cremas, polvos, lociones, geles, productos para las uñas y el cabello, etc.</p>
Diario Oficial de la Unión Europea, 2009	<p>Toda sustancia o mezcla destinada a ser puesta en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano, con los dientes o las mucosas bucales, con el fin de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto, protegerlos, mantenerlos en buen estado.</p>

Los productos comercializados en los Estados Unidos son regulados como medicamentos, cosméticos u OTC medicamentos-cosméticos. No existe una categoría intermedia que corresponda a las cuasi fármacos bajo la jurisdicción farmacéutica japonesa. Tampoco hay un estatuto americano que categorice aquellos productos que tienen niveles de eficacia mayores que un cosmético tradicional pero no los superan en seguridad como un medicamento tradicional. Reed y Klingman proponen que los cosméticos de alto rendimiento sean designados como cosmecéuticos con el respectivo cargo legal que eso implicaría. Piacquadro prefiere el término cosméticos terapéuticos al referirse a medicamentos y dispositivos que cuentan con perfiles de riesgo beneficio conocido y aprobación de la FDA. Privat sugiere las categorías de cosméticos decorativos y/o protectores para aquellos productos que embellecen



por modificar o proteger los tegumentos de daños externos mientras reserva el término cosméticos de remedio o activos para los productos que modifican el estado fisiológico de la piel o tegumento. Morganti acuña el término cosmetognosia para denotar a la ciencia que trata con los efectos biológicos de los cosméticos.

Actualmente el marco regulatorio de los cosméticos es denotado por la 'intención de uso' si un producto es utilizado en la prevención, tratamiento o diagnóstico de enfermedades entonces es categorizado como un medicamento, por razones legales y económicas, las empresas prefieren que sus productos estén bajo el rubro de cosméticos y no de medicamentos, lo que también interfiere con su regulación en calidad. (Barel, 2001)

### 1.7. VALIDACION

La validación es definida como la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones de calidad establecidas. El objetivo de la validación de un método analítico, es demostrar que el método es apropiado para el propósito para el que fue diseñado. Los métodos analíticos pueden ser el ensayo de disolución, y la determinación del tamaño de partícula; sin embargo los cuatro tipos más comunes son:

- Ensayos de identidad. Cuyo fin es asegurar la identificación del analito en una muestra. Se realiza normalmente mediante la comparación de una propiedad de la muestra (comportamiento cromatográfico, reactividad química, espectroscopía) con el de una sustancia de referencia.
- Prueba cuantitativa para el contenido de impurezas y Prueba límite para el control de impurezas. Permiten reflejar con precisión las características de pureza de la muestra. Se evalúan diferentes parámetros de validación según sea una prueba límite ó cuantitativa.
- Valoración. Miden la cantidad de analito presente en una determinada muestra.



Existen varios tipos de validación, como lo es la validación prospectiva, que es la que procede antes de la distribución de cualquier producto nuevo ó producto fabricado bajo revisión del proceso de manufactura donde la modificación quizá afecta las características del producto. Se realiza antes de fabricar lotes comerciales del producto. La validación retrospectiva, consiste en la validación de un producto ó proceso operacional basada en la evaluación y documentación del pasado y presenta los desempeños del método. Mientras que la validación concurrente, se realiza durante la fabricación de los lotes comerciales del producto. Se realiza un muestreo extenso en lotes normales de producción para obtener suficientes datos que demuestren confiabilidad en el proceso.

La revalidación, es la comprobación de que el método analítico mantiene su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros normales de operación del método analítico. Una variación en el método actual deberá documentarse y sujetarse a una validación adecuada. El grado de revalidación requerido depende de la naturaleza de los cambios. Es necesaria cuando: hay cambios en la síntesis del principio activo, cambios en la composición del producto final, cambios en el procedimiento analítico.

El objetivo de un método analítico, debe de ser entendido claramente con las características de validación que sean necesario evaluar. Las características de validación típicas que deben ser consideradas dependen del tipo de método analítico. (Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, 2000)

#### 1.7.1 Clasificación de Métodos Analíticos para su Validación:

Los métodos se clasifican bajo los siguientes criterios:

- En función de su estado regulatorio:

- a) Métodos farmacopéicos
- b) Métodos no farmacopéicos

- En función de su aplicación (NOM-059-SSA1 y NOM-073-SSA1):

- a) Métodos para producto a granel
- b) Métodos para producto terminado
- c) Métodos para muestra primaria
- d) Métodos indicadores de estabilidad.



- En función de la naturaleza de la respuesta analítica
  - a) Métodos físico-químicos.- absorción de luz, emisión de luz, voltaje, consumo de iones OH, consumo de un acomplexante, etc.
  - b) Métodos biológicos.- cuando la respuesta es de carácter biológico (crecimiento de microorganismos, protección, muerte, etc.)
  
- En función de su propósito analítico:
  - a) Métodos para cuantificar el analito (contenido o potencia)
  - b) Métodos para establecer la presencia del analito a un límite.
  - c) Métodos para identificar el analito.
  
- En función de la naturaleza del sistema de medición:
  - a) Métodos en los cuales se permite medir una señal de ruido (cromatógrafo de líquidos y de gases, espectrofotómetros, etc.
  
  - b) Métodos en los cuales el instrumento de medición no permite medir una señal de ruido (buretas, medidor de halos, potenciómetros, etc.)

**Prueba de impurezas**



Parámetro de desempeño	Contenido/ Potencia/ Valoración	Contenido/ Valoración	Limite	Identificación
Precisión/Adecuabilidad del sistema	SI	SI	SI	*
Linealidad del sistema	SI	SI	NO	NO
Especificidad	SI	SI	SI	SI
Exactitud y repetibilidad	SI	SI	NO	NO
Linealidad del método	SI	SI	NO	NO
Precisión del método o Precisión intermedia	SI	SI	NO	NO
Estabilidad analítica de la muestra	*	*	NO	NO
Limite de detección	NO	NO	SI	NO
Limite de cuantificación	NO	SI	NO	NO
Robustez	*	*	*	NO
Tolerancia	*	*	*	NO

TABLA 1. Parámetros de desempeño. (Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, 2000)

\*Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método.

1. La falta de especificidad de un método analítico, puede ser compensada por otra alternativa analítica de soporte, como por ejemplo CCF.
2. También es definido como un estudio de tolerancia.
- 3.-Un método que es exacto y lineal, por definición es específico al placebo analítico o a los otros componentes de la muestra.



La especificidad, es la habilidad del método para demostrar la presencia inequívoca del analito dentro de la muestra, aun cuando haya la presencia de otras sustancias (impurezas, sustancias de degradación, matrices, etc.). En un ensayo de identidad, implica el aseguramiento de la identidad del analito; en una prueba de pureza, el asegurar que todos los procedimientos analíticos realizados permiten un estado de precisión del contenido de impurezas de un analito, y en una valoración, provee un resultado exacto que permite un estado de precisión sobre el contenido ó potencia de un analito en una muestra.

Precisión de sistema, indica la cercanía que existe entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestras ó de una muestra homogénea bajo condiciones establecidas. La precisión debe ser considerada en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad. La repetibilidad es la precisión bajo las mismas condiciones de operación en un corto intervalo de tiempo. La precisión intermedia, es la variación que se presenta dentro de laboratorios, en diferentes días, diferentes analistas, diferente equipo, etc. Y la reproducibilidad, expresa la precisión entre laboratorios, en estudios de colaboración usados para la estandarización de metodología.

Linealidad de sistema. Es la habilidad (dentro de un rango dado) de obtener resultados que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) del analito en la muestra.

Exactitud. Expresa la cercanía entre un valor obtenido experimentalmente y el que se considera como el valor verdadero ó el valor de referencia.

Estabilidad de la muestra. Se determina mediante la comparación de los resultados de los análisis iniciales de tres muestras con los obtenidos de las muestras después de permanecer por un tiempo determinado en diferentes condiciones. Como son temperatura ambiente 25 °C con luz y oscuridad, temperatura de refrigeración; por una y dos horas. Realizándose su análisis bajo las mismas condiciones de operación, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, para cada tiempo. La determinación debe ser efectuada por el mismo analista.



## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los productos cosmetológicos son de alta demanda, en el año, 2004 los productos destinados al cuidado de la piel significaron una cifra de 15.3%, datos de la Cámara Nacional de la Industria de Perfumería, Cosmética y Artículos de Tocador, CANIPEC, según la Asociación Mexicana de Ventas Directas, AMVD, esta categoría percibió en el año 2005 ganancias por \$14,982 millones de dólares, para 2008 según AVON PRODUCTS INC., los ingresos alcanzaron una cifra record de 10.7 billones de dólares a nivel mundial representando un 10% de crecimiento en el sector de la piel, en 2011 en México la CANIPEC reporta que el sector presenta un superávit mayor a 900 millones de dólares.

La cosmetología trata del aseo y los cuidados de la piel sana desde el punto de vista biológico, ésta industria se ha convertido modernamente en una disciplina exacta con fundamento científico, en la que su principio es “*primum nihil nocere*” *sobre todo, no dañar.* (Breuer, 1978)

Esta rama se maneja mediante normatividad nacional e internacional que cuidan la producción y estándares de calidad, en la actualidad se desarrollan artículos cosméticos enfocados a combatir los signos de envejecimiento, ya que es una preocupación permanente tanto en hombres como en mujeres.

Para la formulación de estos productos los científicos enfocados en este trabajo se basan en la utilización de principios activos con actividad terapéutica conocida que favorezcan dichas formulaciones.

Uno de estos compuestos es la cafeína ya que se ha demostrado que tiene propiedades estimulantes sobre la microcirculación y en productos cosméticos, se aplica con un efecto anti fatiga, ya que funciona como un antiinflamatorio para el contorno de ojos (Martindale, 2007), por lo que la importancia de este trabajo experimental es el desarrollo de una formulación en gel con cafeína que satisfaga las necesidades de los clientes con especificaciones de calidad para este producto.



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una formulación cosmecéutica de cafeína en gel, a partir de estudios previos de preformulación.

#### 3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Llevar a cabo el estudio de preformulación de la cafeína, en las etapas de caracterización, estabilidad y compatibilidad.
- Establecer una formulación para gel de cafeína mediante estudios de preformulación.
- Realizar las pruebas de control de calidad a la formulación final.
- Escalar la formulación establecida de nivel laboratorio a nivel de lote piloto.
- Desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación de cafeína en gel.



#### 4. HIPÓTESIS

A partir de los estudios de preformulación en las etapas de caracterización de cafeína, estabilidad en estado sólido y en solución del principio activo y la compatibilidad principio activo con diferentes excipientes se obtendrá una formulación de gel de cafeína que cumpla con las especificaciones de calidad del producto.



## 5. MATERIAL Y METODOS

### 5.1 MATERIAL, INSTRUMENTOS, EQUIPOS, REACTIVOS, EXCIPIENTES Y PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

#### Material

- Matraz bola Entrada 14/20 de 300mL.
- Matraz Erlenmeyer marca Pyrex de 250 mL.
- Vaso de precipitado marca Pyrex 100, 250 y 600 mL.
- Portaobjetos de vidrio.
- Refrigerante Entrada 14/20.
- Reóstato.
- Mangueras de látex.
- Termómetro inmersión parcial -20-150°C.
- Cajas de cartón.
- Bolsas de plástico.
- Espátula de metal.
- Envases de plástico ámbar.
- Envases de vidrio ámbar.
- Soporte universal.
- Anillo de hierro.
- Frascos de plástico.
- Frascos de vidrio.
- Tiras medidoras de pH.
- Probetas de PYREX 10, 50 y 100 mL.
- Placas de vidrio graduadas para diámetro de dispersión.
- Agitadores de vidrio.
- Vasos para penetrabilidad.
- Varillas graduadas de vidrio
- Juego de pesas calibradas.
- Celdas de vidrio.
- Celdas de cuarzo.
- Tubos de ensaye 18 x 150mm.

#### Instrumentos y equipos

- Estufa de estabilidad 20 °C. CAISA. Modelo INC-2-42-TR
- Estufa de estabilidad 40° C. CAISA. Modelo INC-2-42-TR
- Estufa de estabilidad 60°C. CAISA. Modelo INC-2-42-TR
- Lámpara UV. UVCL-25. US. ENTELA
- Balanza analítica. OHAUS. PIONEER. Modelo PA214
- Fisher Johns. Fisher Scientific Company. Series 4022
- Equipo espectro IR.
- Parrilla de calentamiento y agitación. Thermo Scientific.



- Potenciómetro. Scientific products.
- Mezclador planetario Erweka.
- Incubadora. Quiry Lab. Inc. Modelo 12-140E
- Espectrofotómetro. PERKIN ELMER. Modelo LAMBDA 2
- Espectrofotómetro Visible. Barnstead Turned. Spectrophotometer visible. SP-830 Plus.
- Autoclave. Evar. Modelo EV36

#### Reactivos y excipientes

- Cafeína Anhidra. BP/USP. LOTE: CB-100421. Proveedor: HELM de México
- Carbopol 934. Laboratorios COLUMBIA.
- Hidroxipropilmetil Celulosa (HPMC). Searle. Lote LMM810M81F.
- Propilenglicol. Cedrosa. Lote 080327P/FMR.
- Glicerina. Farmacia Paris.
- Benzoato de Sodio. J.T. Baker, S. A. de C. V. Grado USP.
- Trietanolamina. Química MEYER. Grado reactivo.
- HCl 0.1 N. Baker Analyzed. Grado reactivo.
- NaOH 0.1 N. Cuántica procesos y reactivos químicos. Grado analítico.
- Agua destilada.
- Agra papa dextrosa. Para identificación, cultivo y recuento de levaduras y hongos. DIBICO.
- Agar soya Trypticaseina. Cultivo de gérmenes exigentes. DIBICO.
- Sílica gel 60 GF<sub>254</sub>. Para cromatografía en capa fina. Merck.
- HCl 10%. Baker Analyzed. Grado reactivo.
- NaOH 10%. Cuántica procesos y reactivos químicos. Grado analítico.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%. Farmacia Paris.
- Zn granular malla 20. J. T. Baker, S.A de C. V.
- Solución amortiguadora de pH 4. Tecsiquim. Lote TEC-121-XC.
- Solución amortiguadora de pH 7. Tecsiquim. Lote TEC-122-XC.
- Solución amortiguadora de pH 10. Tecsiquim. Lote TEC-123-XC.
- Etilenglicol. J. T. Baker, S.A de C. V. Lote 951389.
- Polipropilenglicol. Merck.
- Polietilenglicol 6000. Merck. Lote 51917368.
- EDTA. Cuántica. Lote 100199.
- Polivinilpirrolidona. Axitors.
- Sorbitol 70%. Drotasa. Lote 6400.
- Acido ascórbico. Droguería Cosmopolita. Lote 114/061/050/05
- Carboximetilcelulosa. Droguería Mercurio
- Miristato de isopropilo
- Metil parabeno
- Goma xantana. Shylex S. A. de C. V.
- Goma arábiga. Casa Guasco.
- Ácido benzóico. Droguería Cosmopolita.



### Preparación de Soluciones

- Ácido Clorhídrico 0.1N

En un matraz volumétrico de 1000 mL depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.

- Hidróxido de sodio 0.1N

En un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver 4.2 g de hidróxido de sodio en agua libre de dióxido de carbono. Llevar a volumen con el mismo disolvente

- Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.2:

En un matraz volumétrico de 1000 mL disolver 34.0 g de Fosfato monobásico de potasio y ajustar el pH a  $7.2 \pm 0.1$  con una solución de Hidróxido de sodio 1.0 N (aproximadamente 175 mL) llevar a volumen, mezclar, envasar y esterilizar. Almacenar en refrigeración. Solución de uso: diluir 1.25 mL de la solución concentrada en 1000 mL de agua purificada. Envasar en volúmenes de 90 mL y 9 mL y esterilizar en autoclave.

- Solución Amortiguadora de Citratos pH 5.0

Pesar 25.8 g de citrato de sodio, pasar a un matraz volumétrico de 1000 mL que contenga 500 mL de agua, agitar mecánicamente hasta disolución y si es necesario ajustar el pH a  $5.0 \pm 0.1$  con solución de ácido cítrico al 20 % (m/v), llevar al aforo con agua y mezclar.

- Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.4

Pasar 70 g de fosfato dibásico de sodio anhidro a un matraz volumétrico de 1000 mL, disolver con 900 mL de agua, determinar el pH, ajustar a pH 7.4 con una solución de ácido fosfórico al 10 % (v/v), llevar al aforo con agua y mezclar. Pasar una alícuota de 10 mL de la solución anterior a un matraz volumétrico de 100 mL, llevar al aforo con agua y mezclar.

- Solución Amortiguadora pH 10.0

En un matraz volumétrico de 200 mL, mezclar 50 mL de SR de ácido bórico y cloruro de potasio 0.2 M con 43.7 mL de SV de hidróxido de sodio 0.2 M. Llevar al aforo con agua.

- Agar papa dextrosa



Rehidratar 39 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 o 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121 °C (15 lb. de presión) durante 15 min. Enfriar aproximadamente a 45 °C vaciar de acuerdo a la técnica a seguir en cajas petri estériles.

- Azul de bromotimol solución 1 (en hidróxido de sodio 0.02 M alcohol-agua)

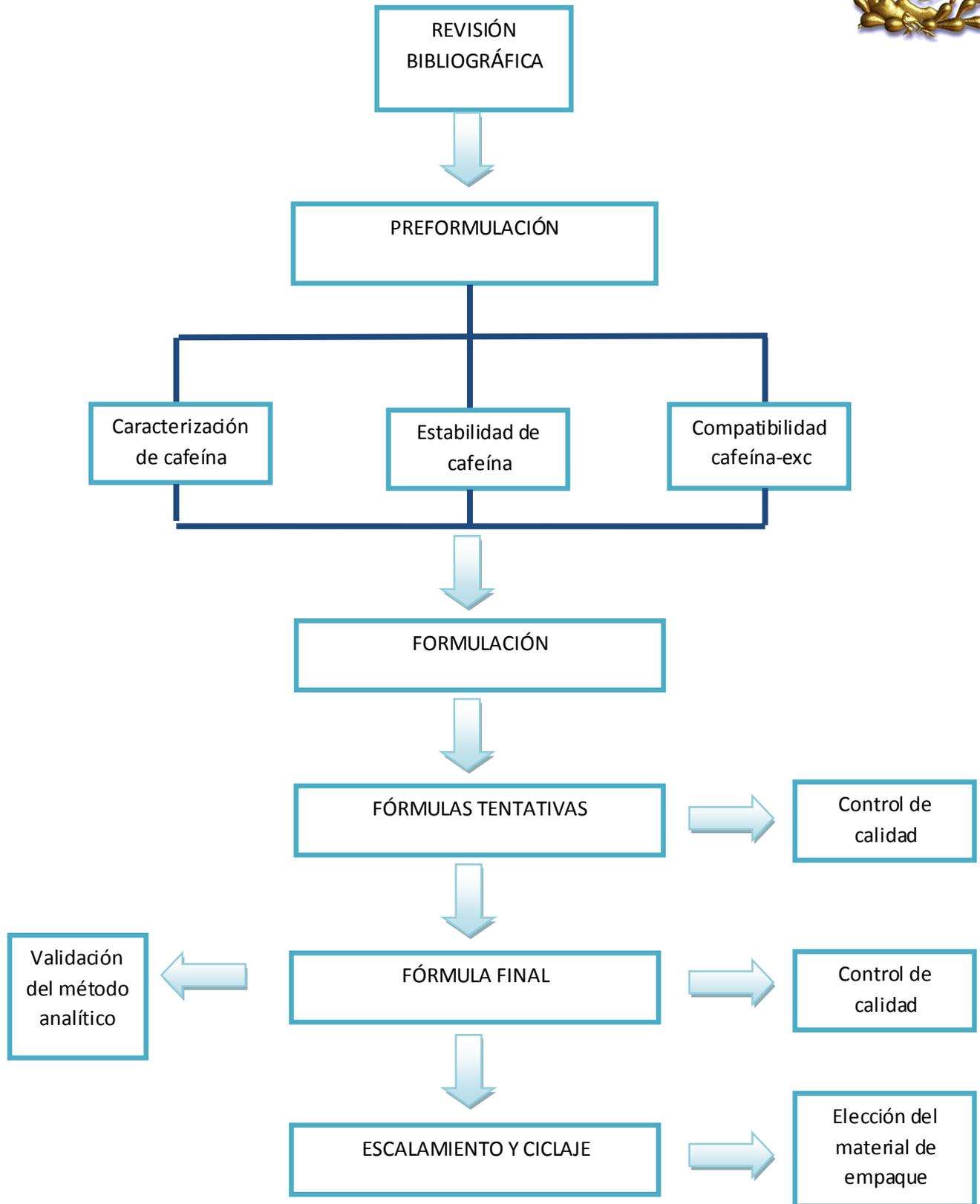
Disolver 50 mg de azul de bromotimol en una mezcla de 4 mL de solución 0.02 M de hidróxido de sodio y 20 mL de alcohol, diluir con agua a 100 mL. Cambia de color amarillo a azul en un intervalo de pH de 6.0 a 7.6.

- Agar soya tripticaseina

Rehidratar 40 g del medio de cultivo en 1 litro de agua destilada Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 min. para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121 °C (15 lb. de presión) durante 15 min.

- Solución A: tetraoxalato de potasio 0.05 M. disolver 12.61 g de tetraoxalato de potasio dihidratado en agua hasta obtener 1000 mL.
- Solución B: biftalato de potasio 0.5 M. disolver 10.12 g de biftalato de potasio previamente secado a 110 °C durante 1 hora, en agua hasta obtener 1000 mL.
- Solución C: fosfato equimolal 0.05 M. disolver 3.43 g de fosfato dibásico de sodio y 3.39 g de fosfato monobásico de potasio cada uno previamente secado a 120 °C durante 2 h en agua, hasta obtener 100 mL.
- Solución D: tetraborato de sodio 0.01 M. disolver 3.8 g de tetraborato de sodio decahidratado en agua hasta obtener 1000 mL. Proteger la solución de la absorción de dióxido de carbono.
- Solución E: hidróxido de calcio saturado. A 25 °C. agitar un exceso de hidróxido de calcio en agua, decantar a 25 °C antes de su uso. Proteger la solución de la absorción de dióxido de carbono.

## 5.2. DIAGRAMA DE FLUJO



### 5.3 PREFORMULACIÓN



5.3.1. Caracterización

Descripción: Polvo blanco cristalino o agujas brillantes generalmente aglomeradas. La forma hidrata es eflorescente al aire.

Solubilidad: Fácilmente soluble en cloroformo; poco soluble en agua y en alcohol; ligeramente soluble en éter dietílico. (FEUM 8ª edición), además se evalúan los siguientes disolventes:

DISOLVENTE
100% agua destilada
100% etanol
90% agua destilada y 10% propilenglicol
90% agua destilada, 5% glicerina y 5% propilenglicol
90% agua destilada y 10% glicerina
90% agua destilada y 10% etilenglicol
90% agua destilada y 10% Polipropilenglicol
90% agua destilada y 10% Polietilenglicol
90% agua destilada, 5% Polipropilenglicol y 5% glicerina

TABLA 2. Disolventes

Ensayos de identidad: El espectro IR de una dispersión de la muestra, previamente seca, corresponde con el obtenido con una preparación similar de la Solución de Referencia de cafeína.



Temperatura de fusión: Salicilato de cafeína: 137°C. Para 50 mg de cafeína sublimada, en un tubo de ensayo añadir 38 mg de ácido salicílico y 2.5 mL de diclorometano. Calentar la mezcla a ebullición y se agrega éter de petróleo gota a gota hasta que la mezcla se vuelva turbia indicando que la solución está saturada. Aislar el tubo con el fin de permitir que se enfríe lentamente a temperatura ambiente. Evaporar trazas de disolvente bajo vacío.

Perdida por secado: Secar a 80 °C durante 4 h. La forma anhidra pierde no más de 0.5 %; la forma hidratada pierde no más de 8.5%.

Acidez o alcalinidad: Calentar a ebullición 1 g de cafeína en 50 mL de agua y enfriar (solución A). A 10 mL de esta solución agregar 0.1 mL de solución indicadora de azul de bromotimol: la solución es verde o amarilla y se requieren no más de 0.1 mL de solución de Hidróxido de Sodio 0.02 M para cambiar el color de la solución a azul.

Valoración: Disolver 400 mg de la muestra en 40 mL de ácido acético, calentar suavemente, enfriar, agregar 80 mL de benceno y titular con SV de ácido perclórico 0.1 N en ácido acético el glacial, determinar el punto final potenciométricamente. Cada mL de SV de ácido perclórico 0.1 N equivale a 19.42 mg de cafeína. Contiene no menos 98.5% y no más de 101.0 % de cafeína calculado con referencia a la sustancia seca.

### 5.3.2. Estabilidad del Principio Activo



CONDICION	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS
Temperatura (60°C)			
Luz blanca			
Humedad relativa			

TABLA 3. Condiciones para determinar la estabilidad de la cafeína.

Adicionar en frascos viales aproximadamente 25 mg de cafeína y colocar las muestras a condiciones de temperatura de 60 ° C, luz blanca y humedad relativa de 75%. Cada condición se realiza por sextuplicado, realizar un muestreo cada 15 días para completar 45 días.

Evaluar cada muestra por cromatografía en capa fina usando como soporte gel de sílice G<sub>f254</sub> preparado en S.A. de fosfatos pH 6.8 y utilizar como fase de elución una mezcla cloroformo-isopropanol 9:1.

PREPARACION DE LA MUESTRA. Pesar aproximadamente 10 mg de cafeína anhidra y colocarlos en un tubo de ensaye en una mezcla cloroformo-isopropanol 9:1.

PREPARACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA: Pesar 10 mg de solución de referencia de cafeína y colocarlos en un tubo de ensaye en una mezcla de cloroformo-isopropanol 3:1.

### 5.3.3. Estabilidad Química del Principio Activo en solución

Se colocan 500 mg de muestra en tubos de ensayo con rosca y adicionar:



CONDICIÓN	REACCIÓN	pH
HCl 10% 10 MI	Hidrólisis Ácida	1.0
Solución amortiguadora	pH de máxima estabilidad	5.0
		7.4
		10.0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10% 10 mL	Oxidación	----
Zn + HCl 10 mL	Reducción	----
NaOH 10% 10 mL	Hidrólisis Básica	14.0

TABLA 4. Estabilidad química de la cafeína

Todos los tubos se calientan a  $75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un baño de agua por 12 h. Se observan los cambios químicos, evaluando las muestras por CCF, obtener el Rf comparado con una muestra de referencia.

PREPARACION DE LA MUESTRA. Mediante un capilar tomar una gota de la muestra y colocarla sobre la placa para CCF.

PREPARACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA: Pesar 10 mg de solución de referencia de cafeína y colocarlos en un tubo de ensaye en una mezcla de cloroformo-isopropanol 3:1.

#### 5.3.4. Compatibilidad Principio Activo-Excipientes

En viales se colocan cantidades fármaco-excipiente en relación 1:1, identificadas y se someten a condiciones de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , realizar muestreos cada 15 días por un periodo de 45 días. El seguimiento es por CCF, en un sistema de elución con mezcla cloroformo-etanol 9:1.



## 5.4 FORMULACIÓN

### 5.4.1. Selección de Excipientes

De acuerdo a los resultados obtenidos en la compatibilidad del principio activo y excipientes, se seleccionan los excipientes que cumpla con las funciones de: agente gelificante, humectante, vehículo y conservador. Posteriormente se realizan formulaciones hasta llegar a la adecuada para el gel de cafeína.

<b>EXCIPIENTE</b>
<b>Agentes gelificantes</b>
HPMC
Carbopol
Propilenglicol
Goma xantana
Goma arábica
Carboximetilcelulosa
<b>Agentes cosolventes</b>
Polipropilenglicol
Glicerina
Polietilenglicol
PVP
<b>Conservadores</b>
EDTA
Acido benzóico
Acido ascórbico
Sorbitol
Benzoato de sodio
Metilparabeno
<b>Estabilizador de pH</b>
Trietanolamina

TABLA 5. Excipientes propuestos



## 5.5. MÉTODO ANALÍTICO DE CUANTIFICACIÓN

El método de cuantificación se establece como una alternativa que permita la determinación de la cafeína de una manera más rápida, evitando el uso de agentes nocivos y de acuerdo a las características fisicoquímicas de la cafeína.

### SISTEMA

Se pesan 250 mg de cafeína en un matraz volumétrico de 250 mL y se aforan con una solución de HCl 0.1 N (solución A). De la solución A tomar 8 mL en un matraz volumétrico de 100 mL y llevar al aforo con HCl 0.1 N, de esta solución tomar 5 mL en un matraz volumétrico de 50 mL y aforar con HCl 0.1 N, para obtener una concentración de 8  $\mu\text{g/mL}$  (80%). De la solución A tomar 10 mL en un matraz volumétrico de 100 mL llevar al aforo con HCl 0.1 N, de esta solución tomar 5 mL en un matraz volumétrico de 50 mL y aforar con HCl 0.1 N, para obtener una concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  (100%). De la solución A tomar 12 mL en un matraz volumétrico de 100 mL y llevar al aforo con HCl 0.1 N, de esta solución tomar 5 mL en un matraz volumétrico de 50 mL y aforar con HCl 0.1 N, para obtener una concentración de 12  $\mu\text{g/mL}$  (120%). Realizar las determinaciones especificadas. Leer en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 271 nm.

### MÉTODO

Pesar aproximadamente 25 mg de cafeína y adicionar 1.25 g de gel placebo en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar al aforo con HCl 0.1 N, de esta solución tomar 1 mL en un matraz volumétrico de 10 mL y aforar con HCl 0.1 N, de esta solución tomar 5 mL en un matraz volumétrico de 50 mL y aforar con HCl 0.1 N. Para obtener una concentración final de 10  $\mu\text{g/mL}$  (100%). Leer en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 271 nm. Realizarlo por triplicado.



5.6. VALIDACIÓN

		PARAMETRO	
		Especificidad	
SISTEMA	Precisión		
	Linealidad		
MÉTODO	Exactitud		
	Linealidad		
	Precisión	Repetibilidad	
		Reproducibilidad	

TABLA 6. Parámetros de validación

- Especificidad. Analizar placebos de producto con el método propuesto, mínimo 3 determinaciones.

Criterio de aceptación. Confirmar que el método propuesto sea capaz de separar la sustancia de interés de cualquier interferencia presente.

- Precisión de sistema. Determinar por un número suficiente de ensayos de alícuotas de una muestra homogénea (solución estándar correspondiente al 100%) capaz de medirse estadísticamente, siendo en total 6 ensayos. Las pruebas son independientes.

Criterio de aceptación.  $CV \leq 1.5\%$

- Linealidad de sistema. Se determina construyendo una línea de calibración (concentración vs. Respuesta medida) utilizando 3 niveles de concentración (80%, 100%, 120%) preparadas a partir de una misma solución patrón y haciendo el análisis por triplicado para los niveles de 80 y 120%, para el nivel de 100% se realiza por sextuplicado.

Criterio de aceptación.  $r^2 \geq 0.98$   $CV \leq 1.5\%$   $b \approx 0$



- Exactitud. Se determina de, cuando menos, seis placebos cargados de manera independiente con la cantidad necesaria de la sustancia de interés para obtener la concentración del 100%, utilizando el método propuesto

Criterio de aceptación.  $CV. \leq 3\%$

- Linealidad de método. Preparar placebos adicionado con cantidades conocidas de la sustancia que incluyan la concentración teórica de la sustancia y que estén por debajo y por arriba de ésta (80%, 100% y 120%). Analizar cada nivel por triplicado con el método propuesto.

Criterio de aceptación.  $r^2 \geq 0.98$   $CV. \leq 3\%$   $b \approx 0$   $m \approx 1$

- Precisión repetibilidad. Determinar analizando repetidamente (sextuplicado) una muestra homogénea del producto con la concentración al 100%, bajo las mismas condiciones de operación y por el mismo analista.

Criterio de aceptación.  $CV. \leq 3\%$

La precisión de un método analítico se expresa como la varianza, desviación estándar ó el coeficiente de variación de una serie de mediciones.

- Precisión reproducibilidad. Analizar repetidamente (triplicado) una muestra homogénea del producto, cercana al 100 %, por lo menos por dos analistas en dos días diferentes

Criterio de aceptación.  $CV. \leq 3\%$



## 5.7. ANALISIS DE CONTROL DE CALIDAD

### Apariencia

En un vaso de precipitados de 50 mL llenar con el gel de cafeína, hacer una inspección visual en la que se observe el color, transparencia y presencia de partículas extrañas.

### Consistencia

Llenar 2 vasos de vidrio de 5.5 cm de altura x 4.0 cm de diámetro con la muestra a evaluar, rasar las muestras con una espátula de acero inoxidable, cubrir las muestras con papel glaseen. Identificar las muestras y se guardan por lo menos 24 horas a una temperatura de  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  en la estufa de estabilidad. Posteriormente en un soporte universal una pinza para bureta colocar una varilla graduada de 4.0 mm de diámetro y 20 cm de altura a aproximadamente 12 mm de la superficie de la muestra, dejar caer la varilla graduada sobre la muestra para que penetre verticalmente durante 15 segundos. Anotar la longitud que penetra la varilla en la muestra y retirarla. Realizar 3 determinaciones en diferentes puntos de la misma muestra, cuidando que haya una separación de al menos 1cm entre cada punto elegido para realizar la medición y que no se haga cerca de las paredes del vaso. Repetir la prueba con la segunda muestra. Expresar los resultados como:

- La media de 6 determinaciones, si ninguno de los valores se desvían del valor medio por más del 10 %.
- En intervalo, si los valores individuales se desvían del valor medio por más del 10 %.

### Diámetro de Dispersión:

En una placa cuadrada de vidrio graduada con circunferencias concéntricas colocar aproximadamente 0.5 g de la muestra en el centro de la placa, colocar un papel blanco de referencia debajo de la placa, sobreponer otra placa de vidrio centrándola con la graduada y colocar en el centro de las placas una pesa de 500 g, esperar 30 s y medir el diámetro con que se dispersa la muestra. Repetir la prueba de 3 a 6 veces con una muestra diferente. Reportar la media y la desviación estándar. Clasificar el producto de acuerdo a la siguiente tabla:



DIÁMETRO	TIPO DE PRODUCTO
Mayor de 70 mm	Fluido
De 50 mm a 70 mm	Poco fluido
De 30 mm a 50 mm	Rígido
Menor de 30 mm	Muy rígido

Limites Microbianos:

PREPARACION DE LA MUESTRA DE PRODUCTOS SOLUBLES EN AGUA: Diluir el producto de prueba en proporción 1:10 en solución amortiguadora de fosfatos pH 7. 2. Si es necesario, ajustar el pH de 6 a 8

METODO DE VACIADO EN PLACA: Usar 2 cajas petri con Agar Soya Trypticaseina y 2 cajas petri con Agar Papa Dextrosa, añadir a cada caja 1 mL de la muestra, agregar de 15 a 20 mL del agar seleccionado a una temperatura no mayor a 45 °C. incubar las placas de Agar Soya Trypticaseina por 3 días y las de Agar Papa Dextrosa 5 días. Calcular el promedio de los recuentos y determinar el número de UFC por mililitro, gramo o por unidad de la muestra.

Control negativo: usar como control negativo el diluyente elegido en lugar de la preparación de la muestra.

Criterio de aceptación:

10<sup>1</sup> UFC: Cuenta máxima aceptable = 20

Transparencia

Usando el Espectrofotómetro visible y las celdas de vidrio, colocar en estas a ¾ partes de su capacidad una muestra de gel de cafeína y obtener la lectura del equipo.

pH

Electrodo de referencia: emplear como electrodo de referencia el de calomel o el de cloruro de plata-plata.

Electrodo de vidrio: se emplea como electrodo indicador. Es del tipo de membrana y su uso primordial es para la determinación de la concentración de iones hidrogeno en soluciones acuosas.



Calibración: seleccionar 2 de las soluciones antes descritas (Ver apartado: preparación de soluciones; de la Solucion A a la E), llenar el recipiente con la primera verificando la temperatura de la medición y corroborar el valor con el tabulado. Lavar el electrodo con agua destilada y realizar lo mismo con la segunda solución, el pH de esta no debe de estar más allá de  $\pm 0.07$  del valor en tablas. De no coincidir el valor ajustarlo manualmente.

Procedimiento: efectuar las determinaciones a  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ . lavar los electrodos y recipientes varias veces con agua destilada. Llenar el recipiente con la solución de prueba y efectuar la medición de pH, enjuagar el electrodo y repetir la operación, las determinaciones no deberán tener una diferencia mayor a 0.05.

Los valores de pH determinados se reportan hasta 0.01 unidades por duplicado, las determinaciones que presenten variaciones dentro de 0.02 unidades de pH son aceptables para promedio, con un nivel de 95% de confiabilidad.



### 5.8. ESCALAMIENTO

Al obtener la formulación adecuada que cumple con las pruebas de calidad preestablecidas se procede a realizar un escalamiento de la cantidad inicial en la formula, 100 g, a 1 kg de gel de cafeína, utilizar para este procedimiento el Mezclador planetario ERWEKA con los agentes gelificantes previamente hidratados y a una velocidad de 25-30 rpm durante 15 min.



FIGURA 3. Mezclador planetario ERWEKA

### 5.9. CICLAJE

Se analizan 2 materiales de envase previamente pesados; vidrio ámbar y plástico ámbar, los cuales se llenan a 2 tercios de su capacidad con el gel, se someten a ciclos de temperatura de 60 °C y de refrigeración alternando las muestras cada 24 horas durante 15 días. Al finalizar al periodo de tiempo se realizan las pruebas de control de calidad para esta forma farmacéutica.



FIGURA 4. Envase de vidrio ámbar



FIGURA 5. Envase de plástico ámbar

## 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS



6.1 Preformulación

6.1.1 Caracterización



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
 LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ZARAGOZA



**CERTIFICADO DE ANÁLISIS**

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

Materia prima: CAFÉÍNA ANHIDRA	Lote fabricante: CB-100421	Método de análisis:
Proveedor: HELM DE MEXICO	Fabricante: HELM DE MEXICO	
<b>ANÁLISIS</b>	<b>LÍMITES</b>	<b>RESULTADO</b>
DESCRIPCIÓN	Polvo blanco cristalino o agujas brillantes generalmente aglomeradas *	Polvo blanco cristalino, con agujas presentes.
SOLUBILIDAD	Cloroformo	Ligeramente soluble
	Fácilmente soluble*	
	Agua	Poco soluble
	Poco soluble*	
	Alcohol	Poco soluble
	Poco soluble*	
	Éter dietílico	Poco soluble
	Ligeramente soluble*	



ENSAYO DE IDENTIDAD	El espectro UV de una solución en etanol exhibe un máximo a 273 nm aproximadamente; en HCl 0.1 N exhibe un máximo a 272 nm aproximadamente.*	El espectro UV de una solución en etanol exhibe un máximo a 272 nm.
TEMPERATURA DE FUSION		
PERDIDA POR SECADO		
ACIDEZ O ALCALINIDAD	Entre 235 °C Y 237.5 °C.*	
CLORUROS		
SULFATOS	La forma anhidra no pierde no más del 0.5%.*	0.46%
ARSÉNICO:		
PLOMO:	Cambio de coloración de amarillo-verde a azul.*	Se requiere de 1 gota de NAOH 0.02 M para observar el cambio de coloración.
METALES PESADOS	No más de 150 ppm.	
	No más de 500 ppm.	
	No más de 3 ppm.	
VALORACION	No más de 10 ppm.	
	No más de 10 ppm. Mezcal 2.0 g de la muestra con 5.0 mL de solución de ácido clorhídrico 0.1 N y 20 mL de agua, calentar suavemente hasta disolución total y enfriar a temperatura ambiente.	
	Cada mL de SV de ácido perclórico 0.1 N equivale 19.42 mg de cafeína.*	



6.1.2 Estabilidad física del principio activo

CONDICION	15 DIAS	30 DÍAS	45 DÍAS
Temperatura (60°C)	-	-	-
Luz blanca	-	+	+
Humedad relativa	-	-	-

TABLA 8. Estabilidad física de la cafeína en estado sólido

(-) Sin degradación; (+) Con degradación

En la tabla 8 se muestran los resultados del estudio de estabilidad física al que se sometió la cafeína. La prueba se realizó en un lapso de 45 días, los resultados se siguieron mediante CCF. La cafeína mostró ser estable a la humedad y temperatura. Presento una degradación en presencia de luz blanca a partir de la 5ª semana, por lo que se observa que las principales rutas de degradación de la cafeína debido a los grupos funcionales que integran su estructura son la fotolisis y la oxidación.

6.1.3 Estabilidad química del principio activo en solución

REACCION	RESULTADO (12 HORAS)	
HCl 10% 10 mL	Sin degradación	
Solución amortiguadora	Citratos	Sin degradación
	Fosfatos	
	Boratos	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10% 10 mL	Con degradación	
Zn + HCl 10 mL	Sin degradación	
\NaOH 10% 10 mL	Con degradación	

TABLA 9. Estabilidad química de la cafeína en solución.



Los resultados mostrados en la tabla 9 tuvieron seguimiento por CCF, en un sistema de elución cloroformo etanol 9:1. Se observa que la materia prima al permanecer en contacto con Zn + HCl, y las soluciones amortiguadoras no presentan degradaciones observables en las placas cromatográficas después de 12 h. del estudio. En presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y NaOH sufren degradación, lo cual corrobora la ruta de degradación de la cafeína.

#### 6.1.4 Compatibilidad principio activo-excipientes

<b>COMPATIBILIDAD</b>	
<b>EXCIPIENTE</b>	<b>45 días</b>
<b>Agentes gelificantes</b>	
HPMC	√
Carbopol	√
Propilenglicol	√
Goma xantana	X
Goma arábiga	√
Carboximetilcelulosa	X
<b>Agentes cosolventes</b>	
Polipropilenglicol	√
Glicerina	√
Polietilenglicol	√
PVP	√
<b>Conservadores</b>	
EDTA	X
Acido benzoico	√
Acido ascórbico	√
Sorbitol	√
Benzoato de sodio	√
Metilparabeno	X
<b>Estabilizador de pH</b>	
Trietanolamina	√

TABLA 10. Compatibilidad cafeína-excipientes. Compatible √; No compatible x



Después del estudio de compatibilidad con duración de 45 días, se lograron descartar aquellos excipientes incompatibles con la materia prima para la formulación, los cuales se ubican en la tabla 10 y que fueron resultado de un seguimiento mediante CCF en un sistema de elución cloroformo etanol 9:1 y son: EDTA, Carboximetilcelulosa, Metilparabeno y Goma xantana.

## 6.2 FORMULACION

Con base a los resultados de la compatibilidad cafeína-excipientes, se seleccionaron los siguientes excipientes para integrar la formulación final, en la tabla 11 se muestran los excipientes y las respectivas proporciones empleadas en cada formulación propuesta.

EXCIPIENTE	F <sub>1</sub> (%)	F <sub>2</sub> (%)	F <sub>3</sub> (%)	F <sub>4</sub> (%)	F <sub>5</sub> (%)	F <sub>6</sub> (%)	F <sub>7</sub> (%)	F <sub>8</sub> (%)	F <sub>final</sub> (%)
Cafeína	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
HPMC	---	---	1.0	1.5	1.0	0.6	0.4	0.1	0.25
Carbopol	1.5	1.0	---	---	1.0	0.6	0.4	0.1	0.4
Benzoato de sodio	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Glicerina	3.0	6.0	7.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Propilenglicol	3.0	4.0	3.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Trietanolamina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Agua	c.b.p. 100 g.								

TABLA 11. Formulaciones propuestas para el gel de cafeína en un lote de 100g.

En todas las formulaciones se realiza una variación en los agentes gelificantes para observar los cambios de consistencia y la transparencia del gel. Se usa el Benzoato de sodio como conservador, ya que es fácilmente soluble en agua y no interfiere en el método de cuantificación. La Trietanolamina ayuda a estabilizar el pH dentro del rango de 6.0 y 7.0.

Los cambios realizados en el propilenglicol y la glicerina, utilizados como cosolventes, son en base a la prueba de solubilidad realizada, se utilizaron 2 cosolventes ya que al trabajar en conjunto se comprobó que su efectividad mejoraba la solubilidad de la cafeína por su efecto sinérgico.



### 6.3 MÉTODO ANALÍTICO DE CUANTIFICACIÓN

Se desarrollo el método analítico de cuantificación, logrando así realizar el tratamiento de las muestras de manera más rápida y sin hacer un gasto excesivo de disolventes para poder realizar los parámetros de la validación de esta forma farmacéutica .

### 6.4 VALIDACIÓN

La validación del método analítico se realizo conforme a los requerimientos establecidos en la Guía del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos de México llevando a cabo el método de análisis desarrollado para el apartado de métodos físico-químicos, cuando la respuesta es de carácter fisicoquímico, que se encuentra dentro de la clasificación en función de la naturaleza de la respuesta analítica.



PARÁMETRO		ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
LINEALIDAD DE SISTEMA		$r^2 \geq 0.98$ $b=0$ $m \neq 0$ El intervalo de confianza no incluye el cero	$r^2 = 0.9914$ $b = 0.00939$ $m = 0.0449$ $IC(\beta_1): 4.1267 \times 10^{-3}, 4.8565 \times 10^{-3}$
PRECISIÓN DE SISTEMA		$CV \leq 1.5\%$	$CV = 0.9930$
EXACTITUD		$CV \leq 3\%$ $IC(\mu) 97-103\%$	$CV = 0.7673$ $IC(\mu) 97.24, 98.85$
ESPECIFICIDAD		La respuesta del método solo se deberá al analito	El método es capaz de identificar a la cafeína sin interferencias.
LINEALIDAD DE MÉTODO		$CV \leq 3\%$ El intervalo de confianza incluye a la unidad	$b = -0.00498$ $m = 0.9818$ $r^2 = 0.9906$ $IC(\beta_1): 0.7607, 1.2185$
PRECISIÓN	REPRODUCIBILIDAD	$CV \leq 3\%$	$CV = 0.6182$
	REPETIBILIDAD	$CV \leq 3\%$	$CV = 0.7826$

TABLA 12. Resultados validación.



LINEALIDAD DE SISTEMA

Concentración (%)	R <sub>1</sub> (abs)	R <sub>2</sub> (abs)	R <sub>3</sub> (abs)
80	0.371	0.379	0.365
100	0.453	0.460	0.445
120	0.551	0.555	0.548

TABLA 13. Respuesta en absorbancia a diferentes concentraciones

X (Co)	Y (abs)	Media	$\sigma$	CV
8	0.371	0.3917	$7.023 \times 10^{-3}$	1.8894 %
8	0.379			
8	0.365			
10	0.453	0.4527	$7.5056 \times 10^{-3}$	1.6580%
10	0.46			
10	0.445			
12	0.551	0.5513	$3.5119 \times 10^{-3}$	0.6370%
12	0.555			
12	0.548			

TABLA 14. Media, desviación estándar y coeficiente de variación para linealidad de sistema

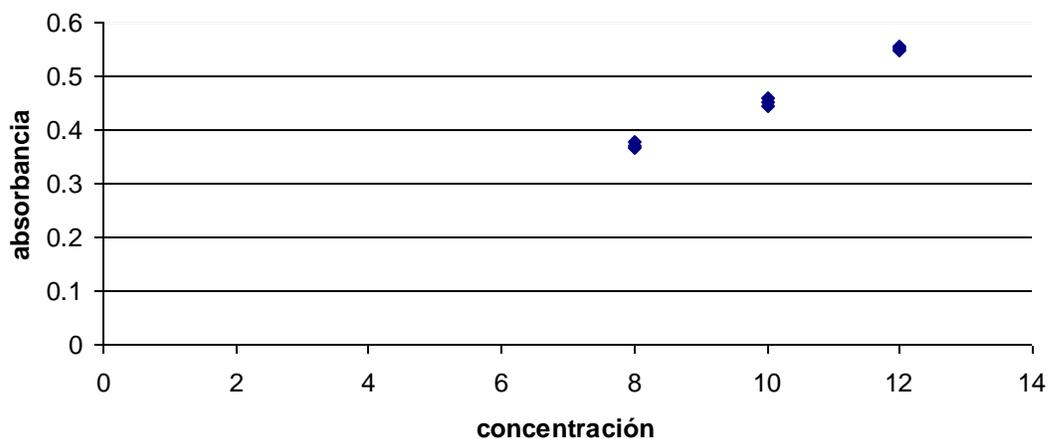


FIGURA 6. Grafica concentración vs Absorbancia para linealidad de sistema

Ecuación de la recta:

$y = 0.0449x + 0.0094$ $r^2 = 0.9914$
---------------------------------------

$b_1 = 4.4916 \times 10^{-3}$
$b_0 = 9.3955 \times 10^{-3}$
$r^2 = 0.9914$
$S_{y/x} = 7.5593 \times 10^{-3}$
$Sb_1 = 1.5430 \times 10^{-4}$
$t_{0.975,7} = 2.365$
$IC(\beta_1): 4.1267 \times 10^{-3}, 4.8565 \times 10^{-3}$
<b>El intervalo de confianza no incluye el cero</b>

TABLA 15. Resultados estadísticos para linealidad de sistema.



PRECISIÓN DE SISTEMA

CONCENTRACION (%)	ABSORBANCIAS
100	0.453
100	0.457
100	0.445
100	0.448
100	0.446
100	0.452

TABLA 16. Absorbancias obtenidas a concentración de 100% para precisión de sistema.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN	
Sy	0.0045
Y	0.4501
CV	0.9930
Conclusión	CV $\geq$ 1.5 %

TABLA 17. Media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación para precisión de sistema



LINEALIDAD DE METODO

NIVEL concentración	CANTIDAD ADICIONADA (mg)	CANTIDAD RECUPERADA (mg)	Media	$\sigma$	CV
120	30.3	29.88	20	0.1825	0.9124
	30.4	30.1			
	30.3	29.72			
100	25.7	25.57	25.15	0.3639	1.4468
	25.6	24.95			
	25.5	24.93			
80	20.3	20.12	29.9	0.1908	0.6381
	20.3	20.09			
	20.4	19.79			

TABLA 18. Media, desviación estándar y coeficiente de variación para linealidad de método.

$$b_1 = 0.9896$$



$b_0 = -0.2689$
$r^2 = 0.9922$
$S_{y/x} = 1.1868$
$Sb_1 = 0.0968$
$t_{0.975,7} = 2.365$
$IC(\beta_1): 0.7607, 1.2185$ <b>El intervalo de confianza incluye a la unidad</b>

TABLA 19. Resultados estadísticos para linealidad de método.

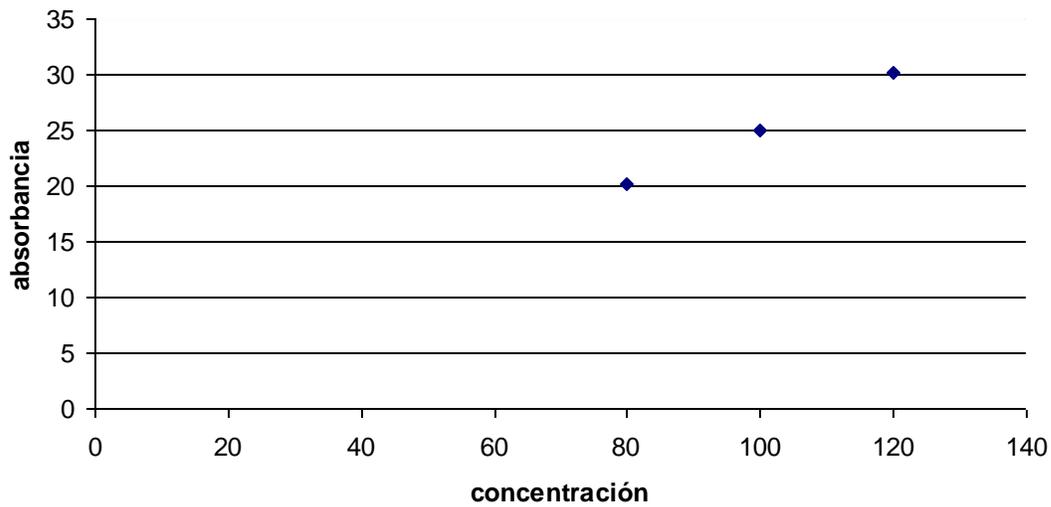


FIGURA 7. Grafica concentración vs Absorbancia para linealidad de método



<b>%RECOBRO</b>
98.05
96.96
98.92
97.61
98.92
97.83

TABLA 20. Porcentajes de recobro para exactitud.

<b>X</b>	98.0483
<b>Sx</b>	0.7673
<b>N</b>	6
<b>Σx</b>	1.2549
<b>σx<sup>2</sup></b>	0.5888
<b>CV</b>	0.7826
t 0.975,5 =2.571	
IC(μ) 97.24, 98.85	
IC(μ) 97-103%	

TABLA 21. Media, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza para exactitud.



REPRODUCIBILIDAD

Día /Analista		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
Día	D <sub>1</sub>	107.36	107.60
		108.68	106.52
		108.04	108.44
	D <sub>2</sub>	108.24	107.60
		106.84	107.16
		107.36	108.24

TABLA 22. Porcentajes de recobro para reproducibilidad. A= analista; D= día; AD= Analista/día

y= 107.6733
s= 0.6656
CV= 0.6182

TABLA 23. Media, desviación estándar y coeficiente de variación para reproducibilidad.



La especificidad generó un resultado favorable, ya que la muestra analizada no tuvo resultados que alteraran el valor obtenido en cuanto a la cafeína, esto aun cuando los agentes gelificantes, el conservador, los cosolventes y el estabilizador de pH estaban presentes.

En lo que se refiere al parámetro evaluado al sistema de validación, linealidad, se observó que el coeficiente de correlación  $r^2$  es de 0.9914, lo cual está dentro del intervalo indicado, además el valor de intervalo de confianza no incluye al cero, esto resulta en la linealidad del sistema, ya que lo obtenido es directamente proporcional a la concentración del analito en la muestra. En cuanto a la precisión del mismo la especificación nos dice que el CV debe de ser menor al 1.5%, el obtenido es de 0.9930, lo que indica la cercanía entre los valores medidos de la muestra correspondiente al 100% de la muestra estándar. Esto significa que la determinación de la valoración del sistema está dentro de los parámetros establecidos.

En cuanto a los puntos analizados en el método los resultados para linealidad muestran que el coeficiente de correlación  $r^2$  es mayor al 0.98 que se requiere como especificación en este apartado, el CV en cada uno de los niveles es menor al 3%, el valor de la unidad está incluido en el intervalo de confianza, lo que resume que el porcentaje de recobro corresponde a la cantidad adicionada originalmente. La Exactitud arroja un resultado de CV de 0.7673, el cual es menor al 3% de la especificación, y el intervalo obtenido se encuentra dentro de parámetro para métodos espectrofotométricos, esto explica la concordancia de los valores usados en el método con el de referencia. La reproducibilidad, aunque este parámetro se encuentra por encima de los porcentajes de recobro esperados, indica que hay concordancia entre las determinaciones independientes realizadas por diferentes analistas y en diferentes días, ya que los resultados estadísticos corroboran un CV menos al especificado.



6.5 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD A FORMULACION FINAL AL INICIO Y TÉRMINO DEL CICLAJE. GUIDANCE, 1998

Una vez obtenida la formulación final se escaló un lote a 1 Kg., esta cantidad se dividió en dos partes para analizar 2 tipos de materiales de empaque, vidrio y plástico, se inició el ciclaje, el cual duró 15 días, y se realizaron pruebas de control de calidad al principio y al termino del mismo. Los resultados se muestran en la tabla 13.

RESULTADO CICLAJE			
PRUEBA	INICIO	TERMINO	
	Envase de plástico	Envase de plástico	Envase de vidrio
Apariencia	Gel traslucido libre de partículas extrañas. 	Gel traslucido libre de partículas extrañas.	Gel traslucido libre de partículas extrañas.
Consistencia. Medida de la longitud penetrada por la varilla en la muestra.	5.13 cm 	4.97 cm	5.03 cm
Diámetro de dispersión	66.7 mm poco fluido	66.7 mm poco fluido	60mm poco fluido



			
Limites microbianos	Sin presencia de UFC 	Sin presencia de UFC	Sin presencia de UFC
Transparencia	0.116 %T	0.092 %T	0.110 %T
pH	6.91	7.02	6.98
Valoración	99.02%	Contiene entre 97.94 y 98.87 %	Contiene entre 98.32 y 98.98 %

TABLA 24. Pruebas de cidaje en diferentes materiales de envase.



La apariencia del gel antes y después del ciclaje no presenta alguna variación, ya que en ninguno de ellos cambio el color ni se encontraron partículas extrañas o agujas de cafeína cristalizada. La consistencia cambio un poco en el envase de plástico después del ciclaje presentando una diferencia de 0.16 cm. En el diámetro de dispersión los resultados entran dentro del mismo tipo de producto: poco fluido. La transparencia obtuvo un valor menor al del inicio del ciclaje en el gel contenido en el envase de plástico, en cuanto al gel en envase de vidrio el cambio fue mínimo. El pH presento una variación menor al 10% en ambos envases. Los datos de valoración no presentan un cambio significativo.

## **7. CONCLUSIONES**

Mediante el estudio de preformulación se estableció una formulación de gel cosmeceútico con cafeína que cumpliera con las especificaciones de calidad para el producto.

La formulación propuesta presentó una forma farmacéutica estable física y químicamente, que logró mantener su estado y características después de someterlo a condiciones de ciclaje.

Se desarrolló el método analítico para la cuantificación de la cafeína en gel, el cual en cuanto a la validación del método cumple con los parámetros estipulados por el Colegio Nacional de QFB's, 2002, y es capaz de identificar a la cafeína sin interferencias de los excipientes del gel.

## **8. REFERENCIAS**



1. Aulton M E. Farmacia: La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. España: Mosby doyma. 2004.
2. Arnaud MJ., The pharmacology of caffeine. USA: 2nd edition. 1997
3. Balsam, M. Cosmetics Science and Technology. 2ª edición. USA: John Wiley and Sons; 1974
4. Barel, André, Handbook of Cosmetic Science and Technology, Marcel Dekker inc. USA.2001
5. Breuer, M., Cosmetic Science. Academic Press. Londres; 1978.
6. Charlet E. Cosmética para farmacéuticos. Zaragoza: Acribia, S.A.; 1996
7. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México A.C. Guía de validación de métodos analíticos. 2000
8. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 8ª Ed. México: Secretaría de Salud Pública, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2006.
9. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 9ª Ed. México: Secretaría de Salud Pública, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2008.
10. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 10ª Ed. México: Secretaría de Salud Pública, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2010.
11. Concil of Europe (Partial Agreement). In accordance with the convention on the elaboration of a European Pharmacopeia. European Pharmacopeia Maisonneuve. Sainte Ruffine- France. 1969.
12. Del pozo, A. Tratado de Farmacia galénica. Madrid: Luzón. 1995



13. Durst, H. Química Orgánica Experimental: Reverte, (consultado: 24 de agosto de 2011) disponible en :  
[http://books.google.com/books?id=xigTfEO1a2gC&pg=PA402&lpg=PA402&dq=espectro+infrarrojo+de+la+cafeina&source=bl&ots=iGm1J2KN1s&sig=Uz298jmB7Eh5Z7kHO06jaAet3dA&hl=en&ei=CS1ZTqLdJYyBsgKu6ImpDA&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=6&sqi=2&ved=0CFwQ6AEwBQ#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=xigTfEO1a2gC&pg=PA402&lpg=PA402&dq=espectro+infrarrojo+de+la+cafeina&source=bl&ots=iGm1J2KN1s&sig=Uz298jmB7Eh5Z7kHO06jaAet3dA&hl=en&ei=CS1ZTqLdJYyBsgKu6ImpDA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&sqi=2&ved=0CFwQ6AEwBQ#v=onepage&q&f=false). (2009)
14. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza. Procedimiento Normalizado de Operación. PNO-0117-09-04. Procedimiento Normalizado de Operación para realizar la prueba de consistencia y diámetro de dispersión en semisólidos. 2009
15. FDA. Bad Reaction to Cosmetics? Tell FDA. (sede web).USA: fda.gov.(publicado 28 de marzo de 2011)(consultado el 9 mayo de 2011); disponible en: <http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm241820.htm>
16. Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form. USA: Taylor and Francis. 2001
17. Klein A. Soft tissue Augmentation: filler fantasy. Dermatological Therapy. 2006
18. LEY GENERAL DE SALUD Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984 TEXTO VIGENTE. Última reforma publicada DOF 10-06-2011 CÁMARA DE DIPUTADOS DEL H. CONGRESO DE LA UNIÓN. Secretaría General Secretaría de Servicios Parlamentarios Dirección General de Servicios de Documentación, Información y Análisis.
19. López Torres, Xochiquetzal. El modelo multinivel de Andrea Jung para Avon products, Inc. [Tesis de maestría] Universidad Iberoamericana. México, DF. 2009.
20. Manual de laboratorio de Tecnología Farmacéutica III. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.
21. Martindale. The complete drug reference. England: 35th Ed., Pharmaceutical Press. 2007.



22. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2006, Buenas Practicas de Fabricación para establecimientos de la industria Química Farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos
23. NORMA Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1995, Estabilidad de fármacos y medicamentos
24. NORMA Oficial Mexicana NOM-141-SSA1-1995, Bienes y servicios. Etiquetado para productos de perfumería y belleza preenvasados.
25. Pagina de la Cámara Nacional de la Industria de Productos Cosméticos (CANIPEC). Consultado en 21 de marzo de 2012. Disponible en: <http://www.canipec.org.mx/woo/index.php?option=comcontent&view=article&id=104itemid=15> (2004)
26. Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea. REGLAMENTO (CE) No 1223/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO Sobre los productos Cosméticos. Diario Oficial de la Unión Europea; 2009
27. Pharmacopeia Convention, Inc. United States Pharmacopeia 25. Rockville, MD: U.S. Pharmacopeia Convention, Inc 2004. Versión en español.
28. Piacquadio D. Crosslinked hyalmonic acid as a soft tissue augmentatism material: a preliminary assessment. In: Elson, ML. editor. Evaluation and treatment of de aging face. New York: Springer-Verlag. 1994
29. Remington G.A. The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006.
30. Simmons, John. Cosméticos: formulación, preparación y su aplicación, España. 2000
31. Smolinske, Susan. Handbook of food, drug and cosmetic excipients, USA: CRCPress, 1992
32. Wilkinson, J.B. Cosmetología de Harry. Ediciones Díaz Santos. Madrid, 1990.