



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

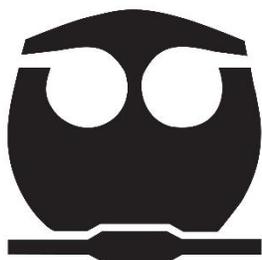
**ANÁLISIS DE ASPIRINA, PARACETAMOL Y CAFEÍNA EN
TABLETAS DE LIBERACIÓN INMEDIATA: UN PROTOCOLO
EXPERIMENTAL PARA LA ASIGNATURA ANÁLISIS DE
MEDICAMENTOS**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

MIRIAM MARTÍNEZ SALAS



Ciudad Universitaria, CDMX

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: INÉS FUENTES NORIEGA
VOCAL: Profesor: BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ
SECRETARIO: Profesor: KENNETH RUBIO CARRASCO
1er. SUPLENTE: Profesor: ALEJANDRO MARTÍNEZ GONZÁLEZ
2° SUPLENTE: Profesor: ABEL BALTAZAR HERNÁNDEZ CALVO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 113, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Blanca Estela Rivero Cruz

SUSTENTANTE:

Miriam Martínez Salas



AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME). Proyecto PE209018 *“NUEVOS PROTOCOLOS EXPERIMENTALES PARA LA ENSEÑANZA DE LA ASIGNATURA ANÁLISIS DE MEDICAMENTOS DE LA CARRERA QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICA. PARTE II”*. Por el apoyo económico para la realización de este proyecto.



ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS	V
1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Paracetamol.....	4
2.1.1 Mecanismo de acción	4
2.1.2 Farmacocinética.....	5
2.1.3 Efectos adversos	5
2.2 Aspirina.....	6
2.2.1 Mecanismo de acción	6
2.2.2 Farmacocinética.....	7
2.2.3 Efectos adversos	7
2.3 Cafeína	8
2.3.1 Mecanismo de acción	8
2.3.2 Farmacocinética.....	9
2.3.3 Efectos adversos	9
3. DESARROLLO	10
3.1 Metodología Analítica.....	10
3.1.1 Adecuabilidad del sistema	12
3.1.2 Linealidad del sistema	12
3.1.3 Precisión del sistema	14
3.1.3.1 Repetibilidad	14
3.1.3.2 Reproducibilidad.....	14
3.2 Pruebas Farmacopeicas.....	15
3.2.1 Ensayo de identidad.....	15
3.2.2 Peso promedio	15
3.2.3 Valoración	15
3.2.3.1 Preparación de la solución madre del estándar	15
3.2.3.2 Preparación de la solución estándar	15
3.2.3.3 Preparación de la solución madre de la muestra	16
3.2.3.4 Preparación de la solución muestra	16



3.2.3.5 Especificación	16
3.2.4 Uniformidad de dosis	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1 Selección de la metodología analítica	17
4.1.1 Adecuabilidad del sistema	19
4.1.2 Linealidad del sistema	20
4.1.3 Precisión del sistema	27
4.1.3.1 Repetibilidad y reproducibilidad	27
4.2. Pruebas farmacopeicas	29
4.2.1 Identidad	29
4.2.2 Peso promedio	31
4.2.3 Valoración	33
4.2.4 Uniformidad de dosis	34
4.2.4.1 Cálculo de valor de aceptación para Excedrin	37
4.2.4.2 Cálculo de valor de aceptación para Bio-Electro.	38
5. CONCLUSIONES	39
6. PERSPECTIVAS	40
7. BIBLIOGRAFIA	41
ANEXO I. PROPUESTA PROTOCOLO DE PRODUCTO TERMINADO: Tablet de Paracetamol, Aspirina y Cafeína	43



LISTA DE TABLAS

Número	Nombre	Página
Tabla 3.1	Marbete Excedrin	11
Tabla 3.2	Marbete Bio-Electro.	11
Tabla 3.3	Diluciones empleadas para preparar las curvas de calibración de paracetamol y aspirina.	13
Tabla 3.4	Diluciones empleadas para preparar las curvas de calibración de cafeína.	13
Tabla 4.10	Parámetros cromatográficos del método.	19
Tabla 4.11	Adecuabilidad del sistema.	20
Tabla 4.12	Coeficientes e intervalos de confianza del intercepto y la pendiente: modelo de linealidad del sistema para cuantificar paracetamol.	22
Tabla 4.13	Coeficientes e intervalos de confianza del intercepto y la pendiente: modelo de linealidad del sistema para cuantificar aspirina.	23
Tabla 4.14	Coeficientes e intervalos de confianza del intercepto y la pendiente: modelo de linealidad del sistema para cuantificar cafeína.	24
Tabla 4.15	Análisis de varianza para el modelo del paracetamol.	25
Tabla 4.16	Análisis de varianza para el modelo de la aspirina.	25
Tabla 4.17	Análisis de varianza para el modelo de la cafeína.	26
Tabla 4.18	Precisión del sistema para los tres fármacos.	27
Tabla 4.19	Reproducibilidad.	28
Tabla 4.20	Tiempos de retención obtenidos por la solución estándar y las soluciones muestra.	30
Tabla 4.21	Peso promedio para el medicamento Excedrin.	31
Tabla 4.22	Peso promedio para el medicamento Bio-Electro.	32
Tabla 4.23	Resultados de ensayo de valoración de Excedrin.	33



Tabla 4.24	Resultados de ensayo de valoración de Bio-Electro.	33
Tabla 4.25	Resultados de uniformidad de dosis para Excedrin.	35
Tabla 4.26	Resultados de uniformidad de dosis para Bio-Electro.	36

LISTA DE FIGURAS

Número	Nombre	Página
Figura 2.1	Estructura química del paracetamol.	4
Figura 2.2	Estructura química de la aspirina.	6
Figura 2.3	Estructura química de la cafeína.	8
Figura 4.1	Linealidad del sistema para cuantificar paracetamol.	21
Figura 4.2	Linealidad del sistema para cuantificar aspirina.	22
Figura 4.3	Linealidad del sistema para cuantificar cafeína.	23
Figura 4.4	Cromatograma obtenido con la solución estándar.	29
Figura 4.5	Cromatograma obtenido con la solución muestra (Excedrin).	30
Figura 4.6	Cromatograma obtenido con la solución muestra (Bio-Electro).	30



LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
USP	United States Pharmacopeia
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
COX	Ciclooxigenasa
CYP	Citocromo P450
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
°C	Grados Celsius
h	Hora
g	Gramo
nm	Nanómetro
min	Minuto
mm	Mililímetro
mL	Mililitro
mg	Miligramo
µL	Microlitro
µm	Micrómetro



UV	Ultravioleta
mAU	Miliunidades de absorbancia
t_R	Tiempo de retención
T	Factor de coleo
R	Resolución
NPT	Número de platos teóricos
β_0	Ordenada al origen
β_1	Pendiente de la recta
r	Coefficiente de correlación
r^2	Coefficiente de determinación
IC(β_1)	Intervalo de confianza para la pendiente
IC(β_0)	Intervalo de confianza para la ordenada al origen
\bar{x}	Promedio
DE	Desviación estándar
CV	Coefficiente de variación
H_0	Hipótesis nula
H_1	Hipótesis alterna
MGA	Método General de Análisis
VA	Valor de aceptación
n	Tamaño de muestra
k	Constante de aceptabilidad



1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los medicamentos representan una medida de eficacia probada para restablecer la salud y mejorar la calidad de vida de la sociedad. La regulación sanitaria de estos insumos es un instrumento necesario e indispensable que permite cumplir con la responsabilidad del Estado para proteger la salud de los mexicanos. La autoridad sanitaria está facultada para establecer los parámetros que deben cumplir los laboratorios farmacéuticos a fin de determinar si un medicamento es eficaz y produce los efectos farmacológicos demostrados durante el proceso de evaluación para su aprobación. Un medicamento es eficaz cuando sirve para restablecer la salud; es seguro cuando el beneficio terapéutico es mayor que los efectos adversos y es de calidad cuando sus atributos físicos y químicos son homogéneos durante su producción y cumplen con las especificaciones. Para lograr este objetivo la Secretaría, mediante acuerdos de colaboración con la COFEPRIS, establece que los medicamentos estarán normados por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). Este documento consiga los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y demás insumos para la salud.

Dentro de este marco de referencia, la asignatura Análisis de Medicamentos (Química Farmacéutica Biológica), está orientada a comprobar, mediante la aplicación de los métodos oficiales de análisis, que las especialidades farmacéuticas, fármacos y aditivos que se comercializan en México cumplen con los requisitos mínimos de calidad. Para ilustrar la Unidad V del curso (Análisis de Formas Farmacéuticas) se desarrollan cuatro prácticas que involucran el análisis de especialidades farmacéuticas que contienen un solo fármaco. Las prácticas realizadas son de gran valor didáctico debido a que ilustran las pruebas, los procedimientos analíticos y los criterios de aceptación farmacopeicos para formas farmacéuticas sólidas de liberación inmediata y semisólidas.



Para motivar al alumno hacia un aprendizaje más completo y concreto consideramos necesario introducir el análisis de nuevos medicamentos que complementen la Unidad V del curso. Con ello, se pretende también utilizar y ampliar las posibilidades de equipo analítico con las que cuenta la Facultad.

Con base en lo antes expuesto, el presente trabajo de tesis pretende mejorar la calidad del proceso enseñanza-aprendizaje del curso práctico de la asignatura Análisis de Medicamentos mediante la implementación de nuevas prácticas y la generación/actualización de material didáctico

Como propuesta para el mejoramiento de la enseñanza práctica de la Unidad V del curso se ha decidido implementar el análisis de tabletas que contienen aspirina, paracetamol y cafeína. El análisis de este producto permitirá ilustrar el uso de la cromatografía de líquidos; una técnica que no se utiliza en las prácticas actuales. El nuevo protocolo ilustrará las diferencias que existen entre las pruebas, los procedimientos analíticos y las especificaciones de calidad que existen para analizar combinaciones de fármacos en una misma forma farmacéutica. A su vez permitirá que el alumno aplique los métodos descritos en la United States Pharmacopeia (USP). En la selección del medicamento, también, se consideró su tiempo de análisis en el laboratorio y su bajo costo.

Otro de los objetivos perseguidos durante la implementación de esta práctica reside en analizar diferentes marcas de medicamentos (genéricos) que permitan a los estudiantes generar conclusiones sobre la calidad de las especialidades farmacéuticas. Para cumplir con este propósito se realizarán las siguientes determinaciones: identidad, uniformidad de dosis y valoración.

La especialidad farmacéutica seleccionada contiene una combinación de tres fármacos útiles para el tratamiento de la migraña. Entre los fármacos de la formulación se encuentra la cafeína, dicho producto, produce un efecto analgésico aditivo cuando se suministra con antiinflamatorios no esteroideos aumentando la absorción y la biodisponibilidad de fármacos como el paracetamol y la aspirina.



Con base en estas consideraciones se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Aplicar los métodos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (Edición 41) para analizar las tabletas de aspirina, paracetamol y cafeína. Las determinaciones a realizar son: ensayos de identidad, uniformidad de dosis y valoración
- Realizar el trabajo experimental con el rigor científico necesario y cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio
- Verificar que los métodos descritos en el compendio farmacopeico son idóneos para analizar la especialidad farmacéutica.
- Propiciar el desarrollo de habilidades y destrezas para realizar el análisis de una combinación de fármacos utilizando cromatografía de líquidos.
- Fomentar la responsabilidad que conlleva el tratamiento, confinamiento y disposición de los residuos generados durante el análisis



2. ANTECEDENTES

2.1 Paracetamol

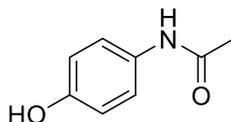


Figura 2.1 Estructura química del paracetamol

Nombres: Paracetamol, Acetaminofeno

Nombre IUPAC: N-(4-hidroxifenol) acetamida

Formula molecular: $C_8H_9NO_2$

Peso molecular: 155.189 g/mol¹

El paracetamol es uno de los analgésicos y antipiréticos de libre venta más utilizados en todo el mundo, está indicado para el tratamiento de dolor leve o moderado causado por cefaleas, migraña, afecciones articulares, dolores musculares y fiebre, entre otros. A diferencia de los demás AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) presenta poca actividad antiinflamatoria y nulos efectos gastrointestinales.

2.1.1 Mecanismo de acción

Actúa principalmente sobre el sistema nervioso central mediante la inhibición de las isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), enzimas involucradas en la síntesis de prostaglandinas. En contraste con los AINE, el paracetamol no inhibe las ciclooxigenasas en tejidos periféricos y, por lo tanto, no presenta efectos antiinflamatorios periféricos



Las propiedades antipiréticas del paracetamol se deben probablemente a los efectos directos sobre los centros reguladores del calor del hipotálamo que producen vasodilatación periférica, sudoración y, por lo tanto, disipación del calor.²

2.1.2 Farmacocinética

El paracetamol se administra por vía oral y alcanza concentraciones plasmáticas máximas en 30-60 min. La semivida plasmática del paracetamol con dosis terapéuticas es de 2-4 h, aunque en dosis tóxicas puede extenderse a 4-8 h. Este fármaco se inactiva en el hígado y se metaboliza por hidroxilación conjugándose principalmente como glucurónido. Aproximadamente, el 80% se excreta por la orina después de la conjugación y el 3% se excreta sin alteración.^{3, 2}

2.1.3 Efectos adversos

Rara vez se presentan efectos adversos en dosis terapéuticas. Sin embargo, dosis tóxicas (10-15 g) provocan hepatotoxicidad potencialmente mortal. Estos efectos tóxicos aparecen cuando las enzimas hepáticas que catalizan las reacciones normales de conjugación se ven saturadas provocando que el fármaco se metabolice por oxidasas de función mixta. El metabolito tóxico resultante es N-acetil-p-benzoquinona imina y se inactiva por conjugación con glutatión; sin embargo, cuando este se agota, el intermediario tóxico se acumula y provoca necrosis hepática y de los túbulos renales.³



2.2 Aspirina

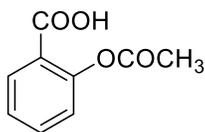


Figura 2.2 Estructura química de la aspirina

Nombre: Ácido acetilsalicílico

Nombre IUPAC: Ácido 2- (acetiloxi) benzoico

Formula molecular: C₉H₈O₄

Peso molecular: 180.159 g/mol⁴

Aspirina es el nombre comercial del ácido acetilsalicílico; se clasifica como un fármaco analgésico no esteroideo (AINE). Fue uno de los primeros fármacos que se sintetizaron; actualmente es uno de los fármacos que se consumen con mayor frecuencia en todo el mundo.³

Posee un efecto antipirético, analgésico, antiinflamatorio y antirreumático indicado en el tratamiento de dolor leve a moderado. Actualmente, está indicado como antiagregante plaquetario para prevenir o reducir el riesgo de infarto al miocardio.⁵

2.2.1 Mecanismo de acción

El ácido acetilsalicílico inhibe directa e irreversiblemente la actividad de ambos tipos de ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) para disminuir la formación de precursores de prostaglandinas y tromboxanos del ácido araquidónico. Su efecto inhibitor de la agregación plaquetaria del ácido araquidónico implica, específicamente, su capacidad para actuar como un donante de acetilo a la ciclooxigenasa.



La acetilación irreversible inactiva la ciclooxigenasa, evitando así la formación del agente de agregación tromboxano A₂ en las plaquetas. Dado que las plaquetas carecen de la capacidad de sintetizar nuevas proteínas, los efectos persisten durante la vida de las plaquetas expuestas (7-10 días).⁵

2.2.2 Farmacocinética

Se administra por vía oral, presenta una absorción rápida y completa. Se metaboliza en el hígado en donde se hidroliza a ácido salicílico, posteriormente, se conjuga con glicina para formar ácido salicílico y ácido glucurónico.⁵

El ácido acetilsalicílico, como ácido débil, se encuentra protonado en el ambiente ácido del estómago, lo que facilita su absorción a través de la mucosa. Sin embargo, la mayor parte se absorbe en el íleon, debido a la extensa superficie de sus microvellosidades.

La semivida plasmática del ácido acetilsalicílico dependerá de la dosis administrada, aunque la duración de la acción no presenta una relación directa con la semivida plasmática, debido a la naturaleza de la reacción inhibitoria de la COX.³

2.2.3 Efectos adversos

A dosis terapéuticas es frecuente una cierta hemorragia gástrica (generalmente leve y asintomática), a dosis altas puede producir *salicilismo*, que se caracteriza por acúfenos, vértigo, hipoacusia y, algunas veces, náuseas y vómitos, como consecuencia de una sobredosis de cualquier salicilato.

La aspirina está relacionada con *Síndrome de Reye*, enfermedad infantil, que se caracteriza por una encefalopatía hepática y daño hepático causada por la administración del fármaco en procesos de gripe o varicela.³



2.3 Cafeína

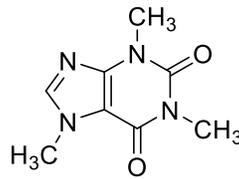


Figura 2.3 Estructura química de la cafeína

Nombre: Cafeína

Nombre IUPAC: 1,3,7-Trimetilpurina-2,6-diona

Fórmula molecular: C₈H₁₀N₄O₂

Peso molecular: 194.194 g/mol ⁶

Es una metilxantina utilizada como estimulante de los sistemas nervioso o respiratorio. Produce relajación de musculo liso, estimulación de musculo cardiaco, y diuresis; con frecuencia, se combina con analgésicos para el tratamiento de cefaleas debido a que funge como adyuvante analgésico.

2.3.1 Mecanismo de acción

Las metilxantinas actúan como antagonistas de los receptores de adenosina. La adenosina actúa como un autacoide, inhibiendo, la liberación de neurotransmisores de los sitios presinápticos y aumenta las acciones de la norepinefrina o la angiotensina, por lo tanto, el antagonismo de sus receptores promueve la liberación de neurotransmisores. ⁷



2.3.2 Farmacocinética

Se administra por vía oral o parenteral, alcanzando concentraciones máximas en un rango de 30 a 120 minutos. Atraviesa la placenta y la barrera hematoencefálica. Su metabolismo se lleva a cabo en el CYP1A2, en donde, se bio-transforma en paraxantina, teobromina y teofilina. El tiempo de vida media en adultos es de 3 a 7 horas y de 65 a 130 horas en neonatos. Se elimina a través de la orina, menos del 10% de la cafeína se excreta inalterada.^{7, 8}

2.3.3 Efectos adversos

La cafeína tiene pocos efectos secundarios adversos y es segura incluso en dosis elevadas. Las pruebas *in vitro* demuestran que posee actividad mutagénica y que en dosis muy altas es teratogénica en los animales. Sin embargo, los estudios epidemiológicos no describen indicios de efectos carcinogénicos o teratogénicos del té o el café en el ser humano.⁹



3. DESARROLLO

3.1 Metodología Analítica

Todos los análisis se realizaron en un cromatógrafo de líquidos marca SHIMADZU (Analytical and Measuring Instruments Division, Kyoto, Japón) equipado con un detector UV-visible dual SPD-10A; un inyector automático SIL-10AD (VP); una bomba LC-10AT (VP); un horno para columna CTO-10A; un desgasificador DGU14A y un sistema de control SCL-10A (VP) acoplado a un equipo de cómputo. El control del equipo y el procesamiento de los datos se realizó utilizando el software LC solution.

El análisis cromatográfico cuantitativo por HPLC se realizó en una columna Purospher® STAR C₁₈, 5 μm, 150 x 4.6 mm (Merck). Como sistema de elución, se utilizó una mezcla de metanol, ácido acético glacial y agua (28:3:69). El flujo utilizado fue de 1.3 mL/min con un volumen de inyección de 20 μL y una longitud de onda de detección de 275 nm. ¹⁰

Las soluciones de paracetamol, aspirina y cafeína empleadas en todos los ensayos fueron preparadas utilizando estándares secundarios de trabajo (98.0%, 98.0% y 99.0% de pureza, respectivamente). Los disolventes orgánicos utilizados son grado HPLC, Merck y el agua fue obtenida a partir de un sistema Merck Milli Q.

Los medicamentos utilizados para el análisis presentan las siguientes características:



Tabla 3.1 Marbete de Excedrin

Denominación común internacional:	Ácido acetilsalicílico, paracetamol y cafeína
Denominación distintiva:	Excedrin
Fabricante:	GlaxoSmithKline Consumer Healthcare SC México
Presentación:	Caja con 24 tabletas
Concentración del fármaco:	250 mg, 250 mg y 65 mg
Forma farmacéutica:	Tabletas
Número de lote:	JA9XM4
Fecha de caducidad:	Jun-19
Condiciones de almacenamiento:	Consérvese el frasco bien cerrado. Consérvese a no más de 30°C

Tabla 3.2 Marbete de Bio-Electro

Denominación común internacional:	Ácido acetilsalicílico, paracetamol y cafeína.
Denominación distintiva:	Bio-Electro
Fabricante:	Genomma Laboratories México S.A de CV
Presentación:	Caja con 24 tabletas
Concentración del fármaco:	250 mg, 250 mg y 65 mg
Forma farmacéutica:	Tabletas
Número de lote:	17JO53
Fecha de caducidad:	Sep-19
Condiciones de almacenamiento:	Consérvese a no más de 30°C Consérvese el frasco bien tapado. Protéjase de la luz



3.1.1 Adecuabilidad del sistema

Las condiciones cromatográficas utilizadas corresponden con las publicadas en la USP 41. Antes de realizar los ensayos de valoración y uniformidad de dosis se evaluó la adecuabilidad del sistema.

La adecuabilidad del sistema se evaluó mediante el análisis por sextuplicado de una solución estándar que contenía 100 µg/mL de paracetamol, 100 µg/mL aspirina y 25 µg/mL de cafeína; la solución se preparó por dilución a partir de las soluciones stock de cada fármaco en metanol-ácido acético glacial (95:5). Los parámetros registrados fueron el tiempo de retención (t_R), el factor de coeol (T), la resolución (R) y el número de platos teóricos (NPT). El criterio de aceptación establecido en el protocolo de validación establece que el coeficiente de variación (CV) entre las réplicas no es mayor del 2.0% para considerar que el sistema es adecuado. ^{11,12,13}

3.1.2 Linealidad del sistema

Este parámetro de calidad se determinó preparando, para cada fármaco, tres curvas de calibración, con seis niveles de concentración de acuerdo con la sensibilidad del método y la calidad de la señal cromatográfica registrada. Los rangos de trabajo para los fármacos en análisis son: paracetamol: 25 µg – 150 µg/mL, aspirina: 25 µg - 150 µg/mL y cafeína: 5 µg - 75 µg/mL. Cada curva se preparó mediante diluciones independientes a partir de la solución stock [1 mg/mL; en metanol-ácido acético glacial (95:5)]. En las **Tablas 3.3 y 3.4** se resumen las diluciones realizadas para preparar cada curva. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante una regresión lineal. Los parámetros calculados fueron la ordenada al origen (β_0), la pendiente de la recta (β_1), el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (r^2) y el intervalo de confianza para la pendiente [IC(β_1)] y para la ordenada al origen [IC(β_0)].



Tabla 3.3 Diluciones empleadas para preparar las curvas de calibración de paracetamol y aspirina.

Muestra	Alícuota	Aforo	Concentración
	A partir de la solución stock [1 mg/mL]	Metanol-ácido acético glacial (95:5)	
A	1500 μ L	10 mL	150 μ g/mL
B	1250 μ L	10 mL	125 μ g/mL
C	1000 μ L	10 mL	100 μ g/mL
D	750 μ L	10 mL	75 μ g/mL
E	500 μ L	10 mL	50 μ g/mL
F	250 μ L	10 mL	25 μ g/mL

Tabla 3.4 Diluciones empleadas para preparar la curva de calibración de cafeína.

Muestra	Alícuota	Aforo	Concentración
	A partir de la solución stock [1 mg/mL]	Metanol-ácido acético glacial (95:5)	
A	750 μ L	10 mL	75 μ g/mL
B	500 μ L	10 mL	50 μ g/mL
C	250 μ L	10 mL	25 μ g/mL
D	200 μ L	10 mL	20 μ g/mL
E	100 μ L	10 mL	10 μ g/mL
F	50 μ L	10 mL	5 μ g/mL



3.1.3 Precisión del sistema

Este parámetro se evaluó por medio de dos propiedades críticas: la repetibilidad y la reproducibilidad.

3.1.3.1 Repetibilidad

Este parámetro de calidad se evaluó mediante la preparación, por sextuplicado, de muestras de paracetamol, aspirina y cafeína a concentraciones de 100 µg/mL, 100 µg/mL y 25 µg/mL, respectivamente. La respuesta analítica obtenida permitió calcular la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV). El criterio de aceptación para esta característica de calidad establece un CV no mayor a 2.0 %.

^{11,12,13}

3.1.3.2 Reproducibilidad

La precisión intermedia o reproducibilidad se evaluó mediante el análisis, por sextuplicado, de muestras de paracetamol, aspirina y cafeína a una concentración de 100 µg/mL, 100 µg/mL y 25 µg/mL, respectivamente. Las muestras se preparan, de forma independiente, en diferentes días (mínimo dos) y por diferentes analistas (al menos dos). Este parámetro se evaluó de nueva cuenta con el cálculo del coeficiente de variación de todos los resultados analíticos. Para cumplir con el criterio de aceptación el CV debe ser menor a 2.0%.^{11,12,13}



3.2 Pruebas Farmacopeicas

3.2.1 Ensayo de identidad

Para identificar los fármacos presentes en las tabletas analizadas se utilizó el tiempo de retención registrado en los cromatogramas obtenidos con las soluciones estándar. Los tiempos de retención de los picos principales registrados con la solución muestra (preparada para la valoración) deben corresponder con los de la solución estándar.

3.2.2 Peso promedio

Para determinar el peso promedio de las tabletas se colocó un vidrio de reloj en la balanza analítica y se llevó, con tara, a ceros. Utilizando unas pinzas, se pesó una a una la masa de veinte unidades. Las tabletas se colocaron en un mortero y se pulverizaron. La muestra obtenida se denominó “muestra compuesta” y se utilizó para realizar el ensayo de valoración.

3.2.3 Valoración

3.2.3.1 Preparación de la solución madre del estándar

50 mg de paracetamol, 50 mg de aspirina y 13 mg de cafeína se colocaron en un matraz volumétrico de 200 mL; los fármacos se disolvieron en solución metanol-ácido acético glacial (95:5) y se completó el volumen a la marca de aforo con el mismo disolvente.

3.2.3.2 Preparación de la solución estándar

La solución estándar se preparó diluyendo 20.0 mL de la solución madre del estándar a 50 mL con solución metanol-ácido acético glacial (95:5).



3.2.3.3 Preparación de la solución madre de la muestra

Para preparar la solución madre de la muestra se pesó, a partir de la muestra compuesta de tabletas, una cantidad equivalente a 250 mg de paracetamol; el polvo se colocó en un matraz volumétrico de 100 mL y se agregaron 75 mL de solución metanol-ácido acético glacial (95:5). La suspensión anterior se agitó mecánicamente durante 30 minutos. Al término del proceso de agitación se diluyó con solución metanol-ácido acético glacial (95:5) a volumen. Finalmente, se filtró a través de papel filtro Whatman No.1.

3.2.3.4 Preparación de la solución muestra

La solución estándar se preparó diluyendo 2.0 mL de la solución madre de la muestra a 50 mL con solución metanol-ácido acético glacial (95:5).

3.2.3.5 Especificación

Las tabletas de paracetamol, aspirina y cafeína contienen no menos de 90.0% y no más de 110.0% de las cantidades declaradas de paracetamol ($C_8H_9NO_2$), aspirina ($C_9H_8O_4$) y cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$).

Inyectar la *Solución estándar* y la *Solución muestra* dentro de las 8 horas de preparación.

3.2.4 Uniformidad de dosis

La uniformidad de dosis se determinó empleando el método de uniformidad de contenido. Para ello, se colocó una tableta en un matraz volumétrico de 100 mL. Enseguida, se agregaron 75 mL de solución metanol-ácido acético glacial (95:5) y se agitó mecánicamente hasta desintegración total. La suspensión resultante se filtró a través de papel filtro Whatman No.1. 2.0 mL del filtrado se diluyeron con solución metanol-ácido acético glacial (95:5) a 50 mL. Se realizaron 10 réplicas para cada medicamento.



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Selección de la metodología analítica

Actualmente, el 80% de las prácticas que se realizan en el curso práctico de la asignatura Análisis de Medicamentos se centran en el análisis de especialidades farmacéuticas que contienen un solo ingrediente activo. Las prácticas incorporadas son de gran valor didáctico debido a que ilustran las pruebas, los procedimientos analíticos y los criterios de aceptación farmacopeicos más utilizados para formas farmacéuticas sólidas orales de liberación inmediata.

Con base en estas consideraciones, el presente trabajo de tesis, pretende introducir un nuevo protocolo para el análisis simultáneo de tres fármacos en tabletas. Es importante destacar que el análisis de medicamentos con más de un fármaco representa una innovación en el curso y permitirá ilustrar el uso de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia: técnica que no se utiliza en las prácticas actuales. El protocolo, también, ilustra la aplicación de los métodos descritos en la USP (United States Pharmacopeia) para analizar diferentes marcas de medicamentos.

De acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio los procedimientos descritos en las monografías de los compendios farmacopeicos no requieren validarse; únicamente debe verificarse su aptitud en las condiciones de uso. El objetivo de esta verificación reside en demostrar que el procedimiento descrito, en la monografía, puede realizarse por el analista con la adecuada precisión, exactitud y especificidad utilizando los instrumentos y matrices de muestras disponibles.

La aptitud del sistema es una parte integral de los métodos cromatográficos; se utiliza para verificar que el sistema cromatográfico sea adecuado para el análisis que se pretende efectuar. La verificación del sistema o adecuabilidad se basa en el concepto de que el equipo, los sistemas electrónicos, las operaciones analíticas y las muestras constituyen un sistema integral que puede evaluarse como tal. ¹¹



De manera general, la aptitud del sistema se determina comparando los resultados de inyecciones repetidas de una solución estándar para evaluar si se cumplen los requisitos de precisión. De acuerdo con la USP es posible realizar ajustes a las condiciones operativas para cumplir con los requisitos de aptitud del sistema; no obstante, los cambios realizados pueden requerir datos de validación adicionales.

Para el desarrollo del presente trabajo se modificaron dos condiciones: el flujo y el volumen de inyección. Debido a que el flujo de 2 mL/min (indicado en la monografía) superaba el límite de máxima presión en el cromatógrafo éste se redujo a 1.3 mL por minuto. Con base en los criterios emitidos por la USP este cambio se encuentra dentro de los límites permitidos (el flujo puede ser ajustado $\pm 50\%$ en sistemas isocráticos). El ajuste en el volumen de inyección se realizó considerando la consistencia con los límites de precisión y detección aceptados.

Finalmente, las condiciones cromatográficas utilizadas para analizar tabletas de Excedrin y Bio-electro son las siguientes:

Modo: HPLC

Fase móvil: metanol, ácido acético glacial y agua (28:3:69)

Columna: Purospher® STAR C₁₈, 5 μm , 150 x 4.6 mm (Merck)

Detector: UV 275 nm

Flujo: 1.3 mL /min

Volumen de inyección: 20 μL

Estándares de referencia: paracetamol, aspirina y cafeína

Diluyente: metanol y ácido acético glacial (95:5)



Estas condiciones analíticas permitieron obtener los parámetros cromatográficos que resumen en la **Tabla 4.10** De acuerdo con los valores estimados para cada parámetro, el método, cumple con las especificaciones recomendadas para metodologías cromatográficas ($T < 2$; $R > 2$ y $NPT > 2000$).

Tabla 4.10 Parámetros cromatográficos del método

Fármaco	Tiempo de retención (t_R)	Resolución (R)	Factor de coeol (T)	No. de platos teóricos (NPT)
Paracetamol	2.2495	3.3597	1.1925	619.7092
Cafeína	3.5865		1.1672	1066.7230
Aspirina	9.3996		1.3428	2281.8378

4.1.1 Adecuabilidad del sistema

Este parámetro de calidad permite establecer la confiabilidad del sistema analítico antes de procesar las muestras con el método rutinario.¹¹

La adecuabilidad se evaluó mediante el análisis por sextuplicado de una solución estándar de aspirina (100 $\mu\text{g/mL}$), paracetamol (100 $\mu\text{g/mL}$) y cafeína (25 $\mu\text{g/mL}$). Como se observa en la **Tabla 4.11** el valor estimado del CV, en todos los casos, es menor a 2.0; por lo tanto, el sistema es adecuado para la ejecución del análisis.



Tabla 4.11 Adecuabilidad del sistema

Muestra	Paracetamol	Aspirina	Cafeína
1	1525452	562664	1111728
2	1536916	571270	1164360
3	1507962	569741	1153509
4	1548884	569535	1152407
5	1510928	559325	1139253
6	1503422	561011	1140900
\bar{x}	1522260.667	565591	1143692.833
DE	18008.5638	5173.6865	18158.6795
CV	1.2 %	0.9 %	1.6 %

4.1.2 Linealidad del sistema

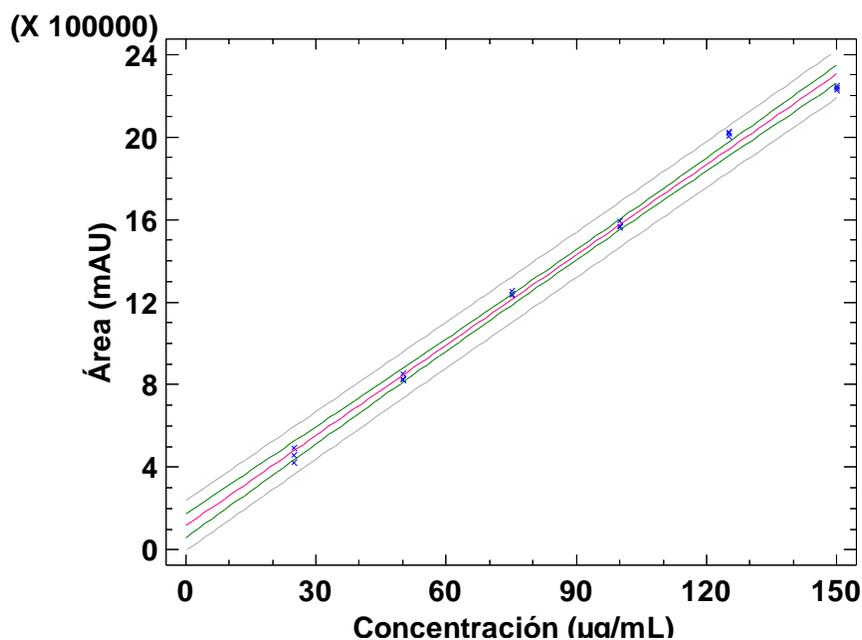
La linealidad del sistema se evaluó mediante el análisis por triplicado, de una curva con seis niveles de concentración para cada fármaco; la experimentación se realizó de forma independiente para cada analito. El intervalo de concentraciones en el que se evaluó la linealidad se estableció considerando como 100% la concentración indicada en la monografía farmacopeica del medicamento. En las **Figuras 4.1, 4.2 y 4.3** se ilustra la relación existente entre el área y la concentración para el paracetamol, la aspirina y la cafeína, respectivamente.

Como se observa en las **Figuras 4.1, 4.2 y 4.3**, la respuesta obtenida para cada compuesto es directamente proporcional a su concentración. En las **Tablas 4.12, 4.13 y 4.14** se muestran los valores estimados del intercepto, la pendiente y los intervalos de confianza para cada fármaco.



El análisis de los datos mediante una regresión lineal permitió estimar un coeficiente de correlación mayor a 0.99 para los tres fármacos, indicando una relación fuerte entre las variables. Asimismo, el análisis de varianza de cada modelo (**Tablas 4.15, 4.16 y 4.17**) permitió calcular un valor P menor a 0.05 en todos los casos corroborando, con ello, que existe una relación lineal estadísticamente significativa entre el área y la concentración. Finalmente, los coeficientes de determinación resultantes de los análisis estadísticos indican que más del 99.6% de la variabilidad obtenida en la respuesta está explicada por los modelos de linealidad ajustados para el paracetamol, la aspirina y la cafeína.

Figura 4.1. Linealidad del sistema para cuantificar paracetamol



Ecuación que describe el modelo:

$$116560.022 + 14584.147 * \text{Concentración paracetamol}$$

Coefficiente de correlación (r) = 0.99710089

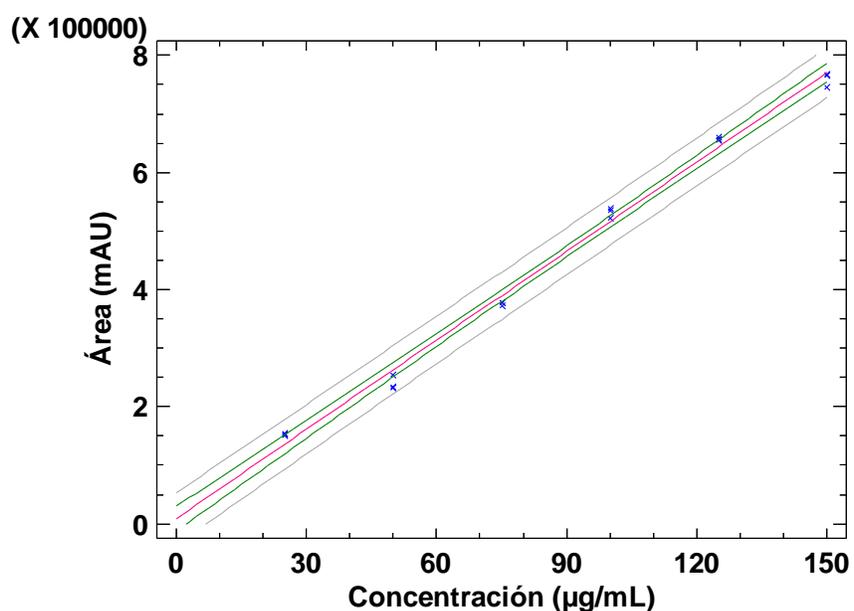
Coefficiente de determinación (r^2) = 0.99421018



Tabla 4.12 Coeficientes e intervalos de confianza del intercepto y la pendiente:
modelo de linealidad del sistema para cuantificar paracetamol.

	Coeficientes	Inferior 95%	Superior 95%
Ordenada al origen (β_0)	116560.022	59133.0243	173987.02
Pendiente de la recta (β_1)	14584.147	13994.3114	15173.9827

Figura 4.2 Linealidad del sistema para cuantificar aspirina



Ecuación que describe el modelo:

$$8935.08889 + 5075.17105 * \text{Concentración aspirina}$$

Coeficiente de correlación (r) = 0.99677796

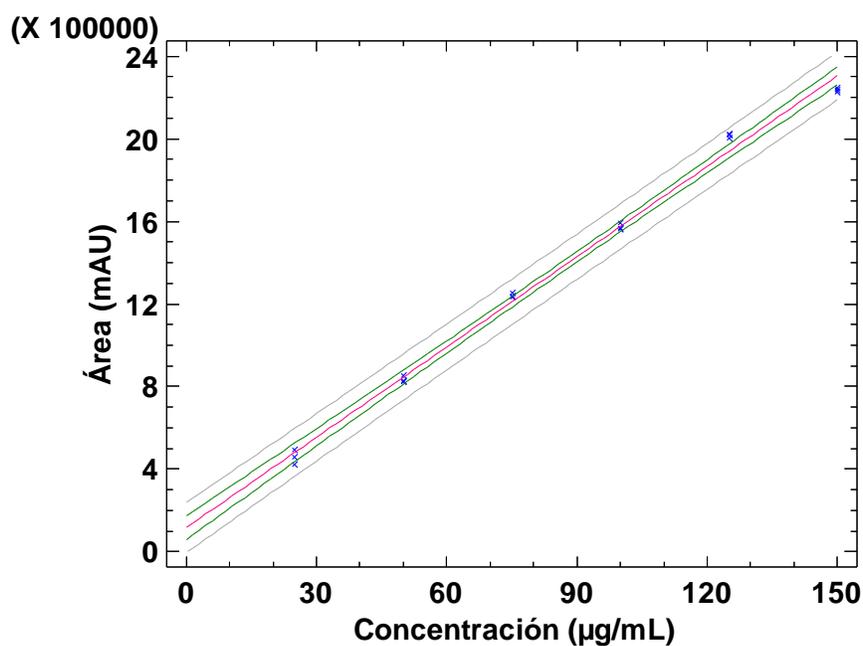
Coeficiente de determinación (r^2) = 0.9935663



Tabla 4.13 Coeficientes e intervalos de confianza del intercepto y la pendiente:
modelo de linealidad del sistema para cuantificar aspirina.

	Coeficientes	Inferior 95%	Superior 95%
Ordenada al origen (β_0)	8935.08889	-12137.802	30007.9798
Pendiente de la recta (β_1)	5075.17105	4858.73029	5291.6118

Figura 4.3 Linealidad del sistema para cuantificar cafeína



Ecuación que describe el modelo:

$$156350.77 + 36821.6759 \cdot \text{Concentración cafeína}$$

Coeficiente de correlación (r) = 0.99543531

Coeficiente de determinación (r^2) = 0.99032217



Tabla 4.14 Coeficientes e intervalos de confianza del intercepto y la pendiente:
modelo de linealidad del sistema para cuantificar cafeína

	Coeficientes	Inferior 95%	Superior 95%
Ordenada al origen (β_0)	156350.77	82788.8699	229912.67
Pendiente de la recta (β_1)	36821.6759	34950.6853	38692.6665

Para completar el análisis estadístico se realizaron además las pruebas de hipótesis de la pendiente y la ordenada al origen, tanto para analizar la significancia de la regresión, como para establecer los intervalos de confianza de los parámetros del modelo. Las hipótesis planteadas fueron las siguientes:

H_0 : El modelo estadístico no representa una relación lineal

H_1 : El modelo estadístico representa una relación lineal

En las **Tablas 4.15, 4.16 y 4.17** se resume el análisis de varianza para cada fármaco. En el caso del paracetamol y la cafeína, se observa que con un nivel de confianza al 95% la ordenada al origen no incluye al cero. Por lo tanto, se realizó un análisis para evaluar la falta de ajuste al modelo. La prueba de falta de ajuste está diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados, o si se debería utilizar un modelo más complicado.

Los resultados de este análisis permitieron concluir que la función de regresión es lineal y el modelo es adecuado para los datos observados con un nivel de confianza del 95.0% (el valor F_0 es menor que su valor crítico y el valor-P es menor a 0.05).



Tabla 4.15 Análisis de varianza para el modelo del paracetamol

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	F	Valor-P
Modelo	6.97913E12	1	6.97913E12	2747.47	<0.05
Residuo	4.06433E10	16	2.5402E9		
Carencia de Ajuste	3.63215E10	4	9.08036E9	25.21	<0.05
Error Puro	4.3218E9	12	3.6015E8		
Total	7.01977E12	17			

Tabla 4.16 Análisis de varianza para el modelo de la aspirina

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Valor-P
Regresión	8.4516E+11	1	8.4516E+11	2470.90592	<0.05
Residuos	5472735525	16	342045970		
Total	8.5064E+11	17			



Tabla 4.17 Análisis de varianza para el modelo de la cafeína

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	F	Valor-P
Modelo	1.45244E13	1	1.45244E13	1740.59	< 0.05
Residuo	1.33512E11	16	8.34452E9		
Carencia de Ajuste	1.11955E11	4	2.79887E10	15.58	< 0.05
Error Puro	2.15575E10	12	1.79646E9		
Total	1.46579E13	17			

Con base en el análisis estadístico realizado se concluye que los modelos de regresión lineal ajustados para el sistema no contravienen ninguna premisa de linealidad y son adecuado para cuantificar los tres fármacos en los intervalos de concentración establecidos.



4.1.3 Precisión del sistema

4.1.3.1 Repetibilidad y reproducibilidad

La precisión del método fue evaluada a través de la repetibilidad y la reproducibilidad (precisión intermedia). En la **Tabla 4.18** se resumen los valores de los coeficientes de variación calculados para el análisis de las muestras de aspirina, paracetamol y cafeína a concentraciones de 100 µg/mL, 100 µg/mL y 25 µg/mL, respectivamente. En todos los casos, los coeficientes de variación obtenidos fueron menores al 2.0 %. Por consiguiente, la variación obtenida está dentro del límite establecido por la USP 41, el cual debe ser menor o igual al 2.0 %. Asimismo, la variación obtenida en diferentes días y con diferentes analistas (precisión intermedia), en cada nivel de concentración, es menor que el límite especificado (**Tabla 4.19**).

Tabla 4.18 Precisión del sistema para los tres fármacos

Muestra	Paracetamol	Aspirina	Cafeína
1	1525452	562664	1111728
2	1536916	571270	1164360
3	1507962	569741	1153509
4	1548884	569535	1152407
5	1510928	559325	1139253
6	1503422	561011	1140900
\bar{x}	1522260.667	565591	1143692.833
DE	18008.5638	5173.6865	18158.6795
CV	1.2 %	0.9 %	1.6 %



Tabla 4.19 Reproducibilidad

		Área (mAU)					
Día	Muestra	Paracetamol		Aspirina		Cafeína	
		Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
Día 1	1	1566921	1543480	566333	557251	1160772	1140091
	2	1527349	1528512	563674	552657	1158125	1148985
	3	1523469	1518856	574189	569200	1181102	1174727
	4	1555706	1509571	568693	569051	1161856	1154982
	5	1548725	1518481	565361	561569	1160178	1164242
	6	1525741	1531621	574160	557778	1174318	1166277
Día 2	1	1528139	1517942	547999	557251	1164727	1141588
	2	1526402	1509957	541708	555379	1164242	1145602
	3	1526341	1518856	545516	552657	1152889	1148985
	4	1517786	1509571	550108	569200	1140991	1154982
	5	1501886	1518481	562707	569051	1178409	1158383
	6	1538971	1517821	552664	561569	1172696	1160646
	\bar{x}	1526274.375		560238.5417		1159574.792	
	DE	15307.81406		9072.352372		11644.89224	
	CV	1.0		1.6		1.0	

Con base en los resultados de reproducibilidad y repetibilidad obtenidos se concluye que el sistema es preciso.



4.2. Pruebas farmacopeicas

4.2.1 Identidad

La identidad de los fármacos se realizó a través de la comparación entre los tiempos de retención de las soluciones estándar de cada fármaco y las soluciones de las muestras preparadas de acuerdo con la técnica de valoración. En todos los casos los tiempos de retención de los picos principales de la solución muestra corresponden con los de los de la solución estándar.

En las **Figuras 4.4, 4.5 y 4.6** se ilustran ejemplos de cromatogramas obtenidos con la solución estándar y las soluciones muestra. En la **Tabla 4.20** se resumen los tiempos de retención para cada muestra.

Figura 4.4 Cromatograma obtenido con la solución estándar

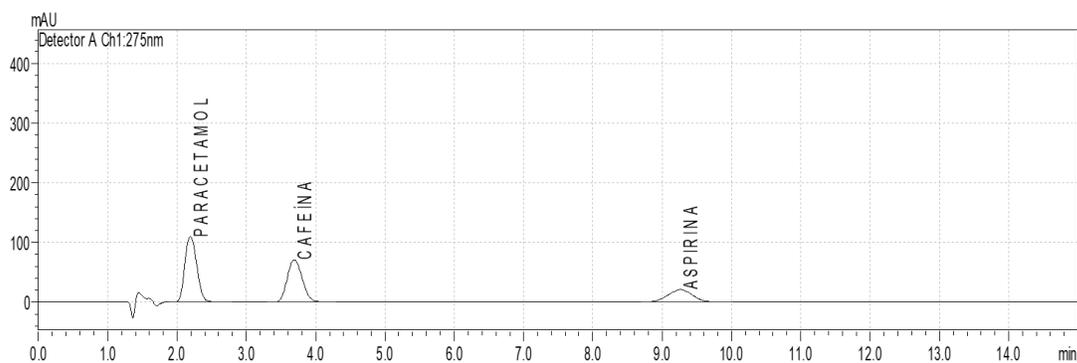




Figura 4.5 Cromatograma obtenido con la solución muestra (Excedrin)

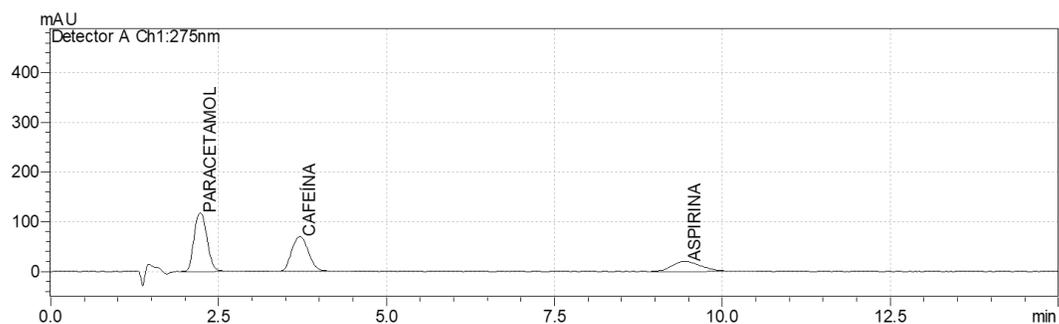


Figura 4.6 Cromatograma obtenido con la solución muestra (Bio-Electro)

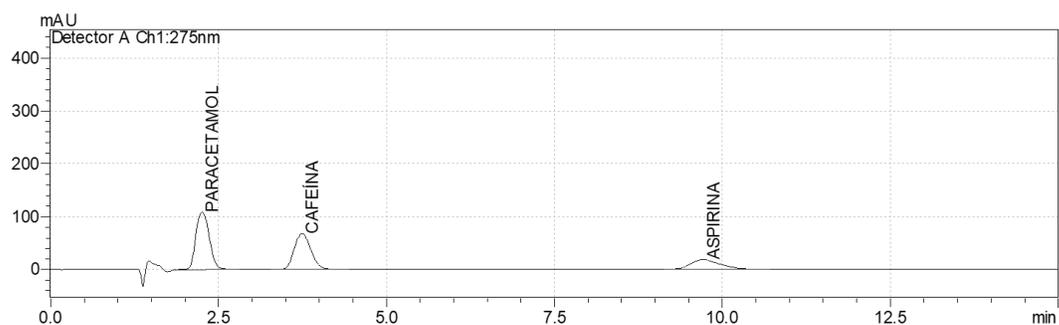


Tabla 4.20 Tiempos de retención obtenidos por la solución estándar y las soluciones muestra

Fármaco	Tiempo de retención (min)		
	Solución Estándar	Solución Muestra (Excedrin)	Solución Muestra (Bio-Electro)
Paracetamol	2.2	2.3	2.2
Aspirina	3.7	3.7	3.7
Cafeína	9.3	9.7	9.6



4.2.2 Peso promedio

Previo al ensayo de valoración se determinó el peso promedio de 20 unidades de dosificación para cada medicamento. Los resultados de las masas obtenidas se enlistan en las **Tablas 4.21 y 4.22**.

Tabla 4.21 Peso promedio para el medicamento Excedrin.

<i>Tableta</i>	<i>Masa (mg)</i>	<i>Tableta</i>	<i>Masa (mg)</i>
1	670.4	11	668.2
2	662.6	12	662.5
3	669.7	13	655.6
4	666.6	14	675.0
5	659.9	15	652.9
6	665.5	16	665.1
7	654.8	17	662.1
8	660.6	18	659.9
9	676.8	19	669.2
10	663.0	20	679.1
		$\sum_{i=1}^{n=20} X_i$	13299.5

Sustituyendo en la siguiente ecuación:

$$\text{Peso promedio} = \frac{\sum_{i=1}^{n=20} X_i}{20 \text{ tabletas}} = \frac{13299.5 \text{ mg}}{20 \text{ tabletas}} = 664.975 \text{ mg}$$



Tabla 4.22 Peso promedio para el medicamento Bio-Electro

<i>Tableta</i>	<i>Masa (mg)</i>	<i>Tableta</i>	<i>Masa (mg)</i>
1	676.4	11	673.7
2	673.4	12	675.5
3	666.7	13	671.4
4	671.1	14	674.5
5	663.5	15	684.5
6	686.6	16	676.4
7	675.1	17	677.2
8	667.8	18	672.2
9	678.7	19	679.5
10	672.0	20	684.5
		$\sum_{i=1}^{n=20} X_i$	13500.7

Sustituyendo en la siguiente ecuación:

$$\text{Peso promedio} = \frac{\sum_{i=1}^{n=20} X_i}{20 \text{ tabletas}} = \frac{13500.7 \text{ mg}}{20 \text{ tabletas}} = 675.035 \text{ mg}$$



4.2.3 Valoración

Las tabletas de paracetamol, aspirina y cafeína contienen no menos de 90.0% y no más de 110.0% de las cantidades declaradas de paracetamol ($C_8H_9NO_2$), aspirina ($C_9H_8O_4$) y cafeína ($C_8H_{10}N_4O$).

En las **Tablas 4.23 y 4.24** se resumen los resultados obtenidos durante el ensayo de valoración para el Excedrin y el Bio-Electro, respectivamente. Como se deduce de los resultados generados el contenido de cada uno de los fármacos se encuentra dentro del rango especificado en la monografía; en todos los casos el coeficiente de variación (CV) entre las muestras fue menor al 2.0%. Por lo tanto, ambos medicamentos cumplen con el ensayo de valoración.

Tabla 4.23 Resultados de ensayo de valoración de Excedrin

Muestra	Peso muestra (mg)	%		
		Paracetamol	Aspirina	Cafeína
1	675.7	92.36549	95.31019	94.50665
2	674.6	93.99517	97.85600	96.14317
3	676.8	93.10366	97.72330	96.75178
	\bar{x}	93.2	97.0	95.8
	DE	0.8160	1.4331	1.1611
	CV	0.9 %	1.5 %	1.2 %

Tabla 4.24 Resultados de ensayo de valoración de Bio-Electro

Muestra	Peso muestra (mg)	%		
		Paracetamol	Aspirina	Cafeína
1	665.2	101.4972	107.6570	105.2515
2	664.8	101.7633	106.6841	106.7738
3	664.7	99.0883	104.6683	104.1102
	\bar{x}	100.8	107.2	105.4
	DE	1.4736	0.6879	1.3363
	CV	1.5 %	0.6 %	1.3 %



4.2.4 Uniformidad de dosis

La uniformidad de dosis se puede demostrar por los métodos de *Variación de masa* o *Uniformidad de contenido*. A menos que se especifique otra cosa en la monografía, los requisitos se aplican, de manera individual, para cada ingrediente activo en un medicamento tanto en unidades de dosis que contengan un solo ingrediente activo como aquellas que contengan dos o más (FEUM, 2018).

El método de *Variación de masa* se basa en la medición de la masa individual de las unidades de dosis de prueba y la variación, entre ellas, relacionada con el contenido de principio activo. Este método supone una distribución homogénea. El procedimiento aplica para el análisis de cápsulas de gelatina dura y tabletas que contengan 25 mg o más de un principio activo y éste constituya el 25% o más de la masa total o el contenido de tabletas y cápsulas, respectivamente. También, se utiliza para el análisis de sólidos (estériles o no), soluciones orales y cápsulas de gelatina blanda (FEUM, 2018).

El método de *Uniformidad de contenido* se basa en la determinación cuantitativa del contenido individual del principio activo en un determinado número de unidades de dosis única. El objetivo es determinar si la variación de los contenidos individuales se encuentra dentro de los límites establecidos. Se puede aplicar a todas las formas farmacéuticas y es ineludible, por ejemplo, para el análisis de tabletas o cápsulas que contengan 25 mg o menos de principio activo o éste represente menos del 25% de la masa total de las tabletas o el contenido de las cápsulas (FEUM, 2018).

Con base en lo antes expuesto el método para evaluar la Uniformidad de dosis de acuerdo con la Farmacopea Mexicana es Variación de masa.

Por otro parte, la especificación USP, para este medicamento indica que las tabletas deben cumplir con los requisitos de Uniformidad de Contenido con respecto a paracetamol, aspirina y cafeína. La USP, en el Método <905>, establece que si la monografía del preparado farmacéutico no describe un método de análisis especial para la *Uniformidad de contenido* deberá emplearse la metodología del ensayo de valoración para demostrar esta característica de calidad. Para ello, si la cantidad de



principio activo, en cada unidad de dosis, difiere de la requerida para la prueba de valoración, será necesario ajustar el grado de dilución de las soluciones y/o el volumen de las alícuotas, hasta que la concentración de los principios activos en la solución final sea igual al del procedimiento de valoración. Se cumple con los requisitos de uniformidad de dosis si el valor de aceptación (VA) de las primeras 10 unidades de dosificación no es mayor que L1% (15.0).

Considerando lo antes expuesto la *Uniformidad de dosis*, se demostrará empleando la metodología de *Uniformidad de Contenido*.

En las **Tablas 4.25 y 4.26** se resumen los resultados de uniformidad de dosis para el Excedrin y el Bio-Electro, respectivamente.

Tabla 4.25 Resultados de Uniformidad de dosis para Excedrin

Muestra	Paracetamol (%)	Aspirina (%)	Cafeína (%)
Tableta 1	95.54441713	102.8971866	102.3950505
Tableta 2	102.1602428	103.0609581	103.7968172
Tableta 3	96.95116666	103.8942411	104.0510165
Tableta 4	97.03827447	104.2539807	103.7517915
Tableta 5	100.120277	103.747907	104.5721971
Tableta 6	98.21646388	101.7110174	104.2871181
Tableta 7	97.26848831	101.6314208	104.0943253
Tableta 8	96.21481064	98.13719497	100.708498
Tableta 9	98.11571462	99.59933354	103.5933684
Tableta 10	97.89461745	100.2153754	104.1620516
\tilde{x}	98.0	101.9	103.5
DE	1.9330	2.0459	1.1557
CV	2.0 %	2.0 %	1.1 %



Tabla 4.26 Resultados de Uniformidad de dosis para Bio-Electro

Muestra	Paracetamol (%)	Aspirina (%)	Cafeína (%)
Tableta 1	96.24836412	103.0671164	99.03009671
Tableta 2	95.60106714	100.5129959	101.7186937
Tableta 3	92.67050513	98.05783442	95.27489824
Tableta 4	95.31953032	102.225179	96.77950316
Tableta 5	94.12581079	99.93293966	99.01888452
Tableta 6	94.56757085	102.8911256	99.93519572
Tableta 7	92.63781276	100.8315843	96.5081439
Tableta 8	93.58203107	101.9834041	99.13757435
Tableta 9	92.58386041	103.1922701	98.12688932
Tableta 10	92.58690279	102.1378886	97.75705132
\bar{x}	94.0	101.5	98.3
DE	1.3943	1.6379	1.8590
CV	1.5 %	1.6 %	1.9 %

Con los resultados de las **Tabla 4.25 y 4.26** se calculó el valor de aceptación (VA) para cada uno de los fármacos. En todos los casos, los valores de aceptación calculados (VA) son menores a L1; por lo tanto, ambos medicamentos cumplen con el ensayo de uniformidad de dosis.



4.2.4.1 Cálculo de valor de aceptación para Excedrin

Constante de aceptabilidad (k)

Tamaño de muestra (n)

Si $n=10$, entonces $k= 2.4$

Paracetamol

Caso 1 $T \leq 101.5$

Si $\tilde{x} \leq 98.5\%$, entonces:

$$M = 98.5\%$$

$$VA = 98.5 - \tilde{x} + ks$$

$$VA = 98.5 - 98.0 + (2.4) (1.9330)$$

$$VA = 0.5 + 4.6392$$

$$\underline{VA = 5.1}$$

$$VA < L1$$

Aspirina

Caso 1 $T \leq 101.5$

Si $98.5\% \leq \tilde{x} \leq 101.5\%$ entonces:

$$M = \tilde{x}$$

$$VA = ks$$

$$VA = (2.4) (2.0159)$$

$$\underline{VA = 4.8}$$

$$VA < L1$$

Cafeína

Caso 1 $T \leq 101.5$

Si $98.5\% \leq \tilde{x} \leq 101.5\%$ entonces:

$$M = \tilde{x}$$

$$VA = ks$$

$$VA = (2.4) (1.1557)$$

$$\underline{VA = 2.8}$$

$$VA < L1$$



4.2.4.2 Cálculo de valor de aceptación para Bio-Electro.

Constante de aceptabilidad (k)

Tamaño de muestra (n)

Si $n=10$, entonces $k= 2.4$

Paracetamol

Caso 1 $T \leq 101.5$

Si $\tilde{x} \leq 98.5\%$, entonces:

$$M = 94.0\%$$

$$VA = 98.5 - \tilde{x} + ks$$

$$VA = 98.5 - 94.0 + (2.4) (1.3943)$$

$$VA = 4.5 + 3.34632$$

$$\underline{VA = 7.8}$$

$$VA < L1$$

Aspirina

Caso 1 $T \leq 101.5$

Si $98.5\% \leq \tilde{x} \leq 101.5\%$ entonces:

$$M = \tilde{x}$$

$$VA = ks$$

$$VA = (2.4) (1.6379)$$

$$\underline{VA = 3.9}$$

$$VA < L1$$

Cafeína

Si $\tilde{x} \leq 98.5\%$, entonces:

$$M = 98.5\%$$

$$VA = 98.5 - \tilde{x} + ks$$

$$VA = 98.5 - 98.3 + (2.4) (1.8590)$$

$$VA = 0.2 + 4.4616$$

$$\underline{VA = 4.7}$$

$$VA < L1$$



5. CONCLUSIONES

Se adecuaron las condiciones cromatográficas para llevar a cabo el análisis de tabletas de paracetamol, aspirina y cafeína, conforme la metodología establecida en la USP Edición 41. Los resultados obtenidos durante el análisis indican que el método es lineal, exacto y preciso para la cuantificación de los tres fármacos en las dos formulaciones.

Las especialidades farmacéuticas analizadas cumplen con las especificaciones de identidad, valoración y uniformidad de dosis establecidas en la USP Edición 41.

Los resultados generados del presente trabajo permitieron elaborar un protocolo experimental para la asignatura Análisis de Medicamentos, dicho protocolo complementará la unidad V del curso y ejemplificará el uso de la cromatografía de líquidos en el análisis simultáneo de tres fármacos en una misma forma farmacéutica.



6. PERSPECTIVAS

Emplear la metodología establecida en el presente proyecto de tesis para analizar tabletas de paracetamol y cafeína y soluciones de paracetamol.

Realizar la prueba de desempeño y el límite de ácido salicílico para completar el análisis farmacopeico de esta especialidad farmacéutica



7. BIBLIOGRAFIA

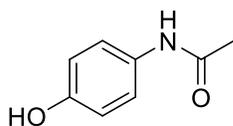
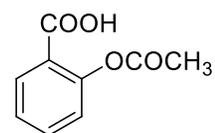
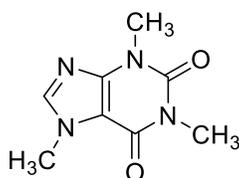
1. Pubchem, Acetaminophen. Citado el día 23 de enero 2019
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1983>
2. Drug Bank, Acetaminophen. Citado el día 23 enero 2019
<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00316>
3. Rang & Dale (2012). Farmacología. Editorial Elsevier, 7ma edición, Barcelona España, pp. 318-335
4. Pubchem, Aspirin. Citado el día 23 de enero 2019
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2244>
5. Drug Bank, Aspirin. Citado el día 23 enero 2019
<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00945>
6. Pubchem, Caffeine. Citado el día 23 de enero 2019
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2519>
7. Drug Bank, Caffeine. Citado el día 23 enero 2019
<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00201>
8. Gennaro, A. R. Remington Farmacia. Editorial Médica Panamericana, 20° Edición, Buenos Aires Argentina, pp.
9. Rang & Dale (2012). Farmacología. Editorial Elsevier, 7ma edición, Barcelona España, pp. 588
10. United States Pharmacopeia (2018) USP 41-NF36, Suplemento, Acetaminophen, Aspirin and Caffeine, pp. 42-43
11. United States Pharmacopeia (2018) USP 41-NF36, Volumen I, Cromatografía, pp. 6363-6375
12. United States Pharmacopeia (2014) USP 37-NF32, Volumen I, Validación de métodos analíticos, pp. 1440-1445
13. García, M. A., Soberón, E., Cortés, M., Rodríguez, R., Herrera, J. L., Alcántara, A. (2002). Guía de Validación de Métodos Analíticos, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A. C.
14. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (2018). Tomo I. 12° Edición, Secretaría de Salud, México, MGA 0299, pp. 350-356



15. United States Pharmacopeia (2018) USP 41-NF36, Volumen I, <905> Uniformity of Dosage Units, pp. 6673-6677
16. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (2018). Tomo I. 12° Edición, Secretaría de Salud, México, Apéndice V. Principios generales de buenas prácticas de laboratorio, pp. 971-984



**ANEXO I. PROPUESTA PROTOCOLO DE PRODUCTO TERMINADO:
Tabletas de Paracetamol, Aspirina y Cafeína**



Práctica 6



ANÁLISIS DE TABLETAS DE ACETAMINOFENO, ASPIRINA Y CAFEÍNA

1. Objetivo general

Proporcionar al alumno los conocimientos prácticos que le permitan aplicar e interpretar los métodos generales de mayor aplicación para el análisis de tabletas.

1.1 Objetivos particulares

- Aplicar los métodos descritos en la United States Pharmacopeia (USP), Edición 41, para evaluar la calidad de Tablet de paracetamol, aspirina y cafeína. Para ello, se realizarán las siguientes determinaciones: identidad, valoración y uniformidad de dosis.
- Verifica que los métodos descritos en los compendios farmacopeicos son idóneos para analizar los fármacos propuestos.
- Realizar el análisis comparativo entre los resultados obtenidos durante el análisis del medicamento innovador (Excedrin) y un producto genérico (Bio-Electro).
- Realizar el trabajo experimental con el rigor científico necesario y cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

1. Antecedentes

El paracetamol es uno de los analgésicos y antipiréticos de libre venta más utilizados para el control del dolor leve o moderado causado por cefaleas, afecciones articulares, dolores musculares y fiebre, entre otros.

La aspirina (ácido acetilsalicílico) posee un efecto antipirético, antiinflamatorio y antireumático indicado en el tratamiento de dolor leve a moderado. Actualmente también está indicado como antiagregante plaquetario lo cual ayuda a prevenir o reducir el riesgo de infarto al miocardio.

La cafeína es utilizada como estimulante de los sistemas nervioso o respiratorio. Con frecuencia se combina con analgésicos para el tratamiento de cefaleas.

Estos tres fármacos, en combinación) son indicados en el tratamiento de la migraña, debido a las propiedades analgésicas del paracetamol y el ácido acetilsalicílico, por su parte, la cafeína produce un efecto analgésico aditivo cuando se suministra con antiinflamatorios no esteroideos aumentando su absorción y biodisponibilidad.



ANÁLISIS DE TABLETAS DE PARACETAMOL, ASPIRINA Y CAFEÍNA

Defina los siguientes términos. Documente la bibliografía consultada

Medicamento:

Bibliografía:

Forma farmacéutica:

Bibliografía:

Tableta:

Bibliografía:

Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC):

Bibliografía:



Marbete del medicamento

En la siguiente tabla escriba la información relacionada con la muestra objeto de análisis:

Tabla 1. Marbete del medicamento

Denominación común internacional	
Denominación distintiva:	
Fabricante:	
Presentación:	
Concentración del fármaco:	
Forma farmacéutica:	
Número de lote:	
Fecha de caducidad:	
Condiciones de almacenamiento:	

3 Especialidad Farmacéutica

40 tabletas de Aspirina (250 mg), Paracetamol (250 mg) y Cafeína (65 mg), denominación distintiva Excedrin.

40 tabletas de Aspirina (250 mg), Paracetamol (250 mg) y Cafeína (65 mg), medicamento genérico (Bio-Electro)

4 Procedimiento experimental

4.1 Descripción del producto:

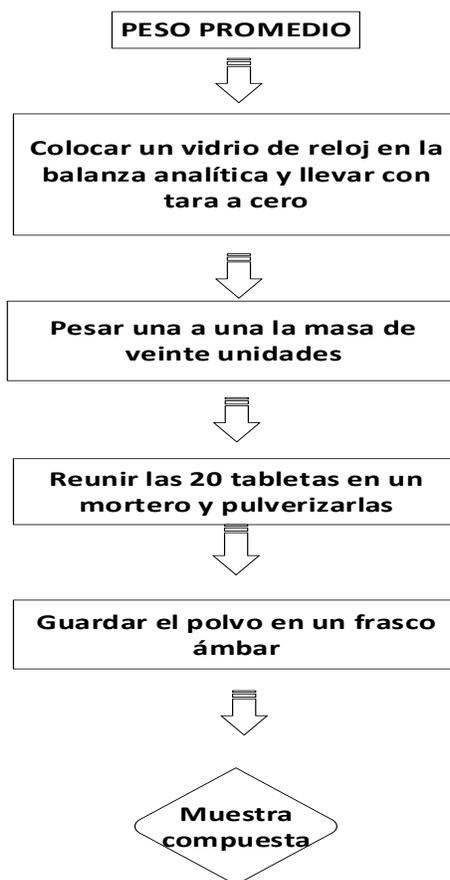
4.2 Peso promedio

4.2.1 Procedimiento

Colocar un vidrio de reloj en la balanza analítica y llevar con tara a ceros. Utilizando unas pinzas, pesar una a una la masa de veinte unidades y registrarlas en la Tabla 1. Reunir las 20 tabletas en un mortero y pulverizarlas; guardar el polvo obtenido en un frasco de vidrio ámbar rotulado correctamente. La muestra obtenida se denomina “muestra compuesta” de tabletas de aspirina, paracetamol y cafeína y se empleará para realizar los ensayos de identidad y valoración.



4.2.2 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento. Identifique los residuos generados.



4.2.3 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Vidrio de reloj
1	Pinza de disección
1	Mortero con pistilo
1	Frasco ámbar con tapa

Muestra	
20 Tabletas de acetaminofeno, aspirina y cafeína	



4.2.4 Resultados

Registre los resultados obtenidos en la Tabla 2:

Equipo/instrumento utilizado	
Balanza analítica	Marca:
	Código interno:
	Alcance:

Tabla 2. Masa de las 20 tabletas (mg)

Tableta 1	Tableta 2	Tableta 3	Tableta 4	Tableta 5
Tableta 6	Tableta 7	Tableta 8	Tableta 9	Tableta 10
Tableta 11	Tableta 12	Tableta 13	Tableta 14	Tableta 15
Tableta 16	Tableta 17	Tableta 18	Tableta 19	Tableta 20

Con base en los resultados obtenidos calcule el peso promedio de las tabletas.

$$\text{peso promedio} = \frac{\sum_{i=1}^{n=20} X_i}{20} = \frac{\quad g}{20} = \quad g$$



La siguiente metodología se encuentra publicada en la USP 41 para analizar tabletas de paracetamol, aspirina y cafeína.

4.3 Identidad

Los tiempos de retención relativos de los picos principales en el cromatograma de la *Preparación de valoración* corresponden con los del cromatograma de la *Preparación estándar*, según se obtienen en *Valoración*.

4.3.1 Resultados

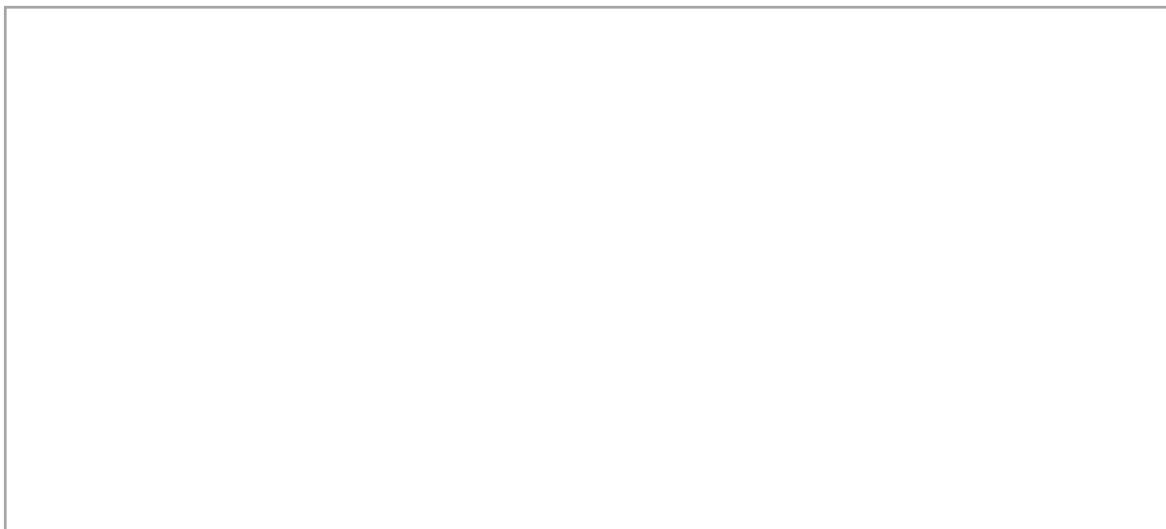
Registre las características de los equipos/instrumentos empleados en la siguiente tabla:

Equipo/instrumento utilizado	
Balanza analítica	
Marca:	
Número:	
Cromatógrafo de líquidos	
Marca:	
Modelo:	

Registre los resultados obtenidos en la siguiente Tabla:

Fármaco	Tiempo de retención	
	Preparación estándar	Preparación de valoración
Acetaminofeno		
Aspirina		
Cafeína		

4.3.2 Anexe una fotografía de los cromatogramas obtenidos e indique los picos correspondientes al acetaminofeno, aspirina y cafeína.



4.3.3 Observaciones

4.3.4 Dictamen



4.4 Valoración

4.4.1 Describa el fundamento del ensayo de valoración empleando la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Documente la bibliografía consultada

4.4.2 Procedimiento

Fase móvil: preparar una mezcla adecuada de agua, metanol y ácido acético glacial (69:28:3).

Mezcla de disolventes: preparar una mezcla de metanol y ácido acético glacial (95:5).

Solución madre del estándar: disolver cantidades pesadas con exactitud de ER Acetaminofeno USP, ER Aspirina USP y ER Cafeína USP en *Mezcla de disolventes* para obtener una solución con concentraciones conocidas de aproximadamente 0.25 mg de ER Acetaminofeno USP por mL, 0.25*J* mg de ER Aspirina USP por mL y 0.25*J'* mg de ER Cafeína USP por mL siendo *J* el cociente entre la cantidad declarada, en mg, de aspirina y la cantidad declarada, en mg, de acetaminofeno por Tableta; y siendo *J'* el cociente entre la cantidad declarada, en mg, de cafeína, y la cantidad declarada en mg, de acetaminofeno por Tableta.

Procedimiento sugerido: Pesar 50 mg de paracetamol, 50 mg de aspirina y 13 mg de cafeína y transferirlos a un matraz volumétrico de 200 mL; disolver con *Mezcla de disolventes* y diluir a volumen con el mismo disolvente.

Preparación estándar: Transferir 20.0 mL de *Solución madre del estándar* a un matraz volumétrico de 50 mL, diluir a volumen con *Mezcla de disolventes* y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 0.1 mg/mL de ER Acetaminofeno USP, 0.1*J* de ER Aspirina USP y 0.1*J'* mg/mL de cafeína por mL.

Preparación de valoración: A partir de la muestra compuesta de tabletas de acetaminofeno, aspirina y cafeína (numeral 4.2.1) pesar una cantidad de polvo equivalente a 250 mg de paracetamol y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL. Agregar 75 mL de *Mezcla de disolventes* y agitar mecánicamente durante 30 minutos. Diluir a volumen con *Mezcla de disolventes* y mezclar. Transferir 2.0 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 50 mL, diluir a volumen con *Mezcla de disolventes* y mezclar.

Sistema cromatográfico. Equipar un cromatógrafo de líquidos con un detector a 275 nm y una columna de 4.6 mm x 10 cm rellena con material L1 de 5 µm y mantener a 45 ± 1°. El flujo es de aproximadamente 2.0 mL por minuto. Inyectar en el cromatógrafo la *Preparación estándar* y registrar el cromatograma según se indica en el *Procedimiento*: el

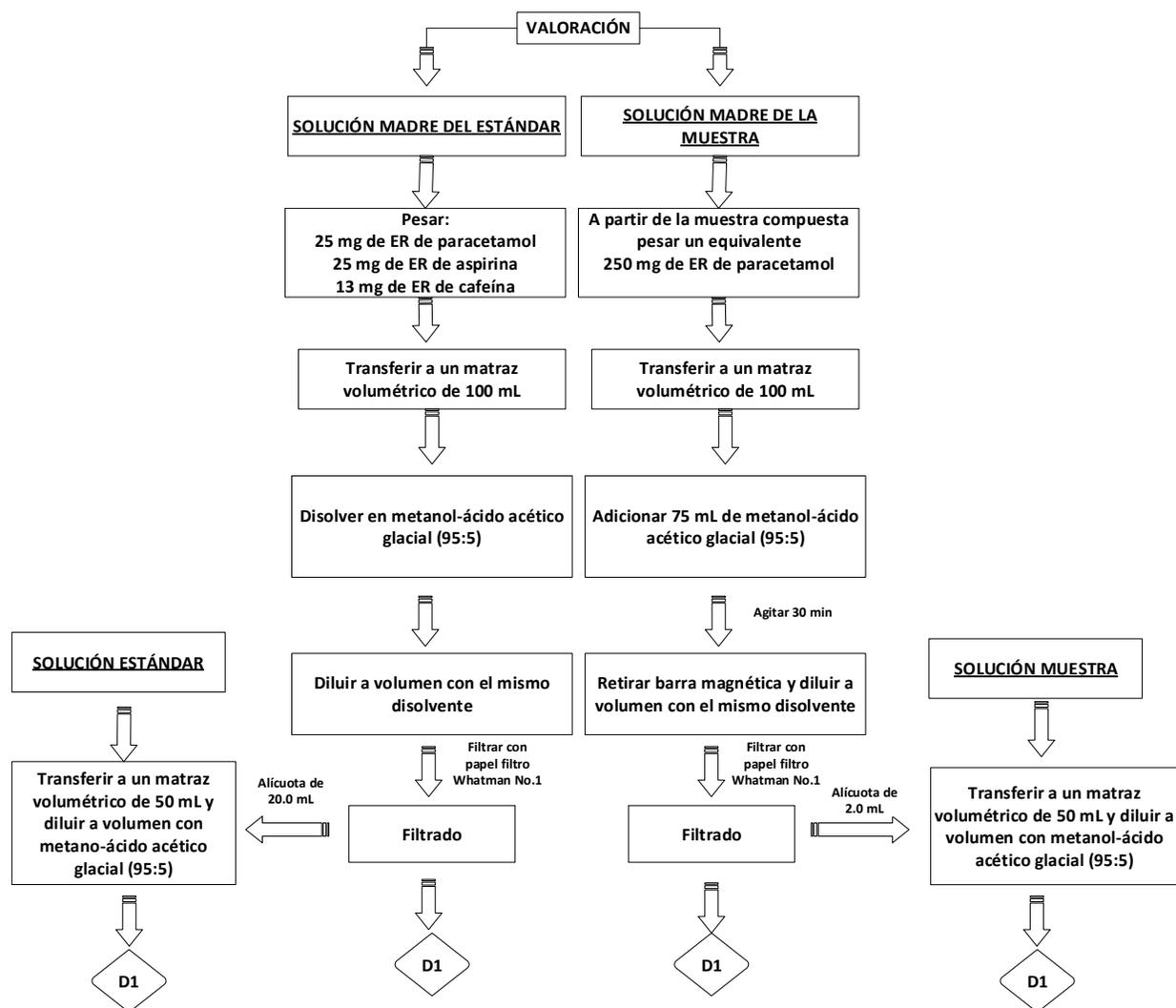


factor de asimetría para el pico de cada analito no es mayor de 1.2; la resolución, R , entre cualquiera de los picos del analito y del estándar interno no es menor de 1.4; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es más de 2.0%.

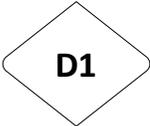
Procedimiento: inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ L) de la *Preparación estándar* y de la *Preparación de Valoración*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes a los picos principales. Los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0.3 para acetaminofeno; 0.5 para cafeína; 0.8 para aspirina y 1.0 para ácido benzoico y 1.2 para ácido salicílico. Calcular las cantidades, en mg, de acetaminofeno ($C_8H_9NO_2$), aspirina ($C_9H_8O_4$), y cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$) en la porción de tabletas tomada

Criterios de aceptación: Las tabletas de Acetaminofeno, Aspirina y Cafeína contienen no menos de 90.0% y no más de 110.0% de las cantidades declaradas de acetaminofeno ($C_8H_9NO_2$), aspirina ($C_9H_8O_4$), y cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$)

4.4.3 Con base en la información proporcionada elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.





Residuo	Contenido	Tratamiento
 D1	Paracetamol, aspirina y cafeína, mezcla en metanol-ácido acético glacial (95:5)	Colocar en un frasco y etiquetar con los requisitos internos correspondientes.

Recomendaciones especiales:

1. Filtrar la fase móvil a través de una membrana de 0.22 μm
2. Desgasificar la fase móvil, durante 20 min, en un sonicador apropiado
3. Revisar el instructivo de uso del cromatógrafo de líquidos
4. Equilibrar la columna y el detector con la fase móvil y el flujo especificado en el procedimiento hasta obtener una señal constante
5. Filtrar las muestras a través de acrodiscos de 0.45 μm
6. Inyectar una muestra y comenzar la elución de los analitos
7. Registrar el cromatograma
8. Analizar los datos de acuerdo con lo especificado en la monografía

4.4.4 Adecuabilidad del sistema

Para verificar que el sistema cromatográfico sea adecuado para el análisis, inyectar, 6 veces la *Preparación estándar* y registrar los cromatogramas respuesta. En la siguiente Tabla escriba las áreas de los picos respuesta y calcule el promedio y su desviación estándar relativa (DER). Registre, también, la resolución, R , entre los picos y su factor de asimetría.

No. de inyección	Áreas (mAU)		
	Acetaminofeno	Aspirina	Cafeína
1			
2			
3			
4			
5			
6			
Promedio			
DER			
Factor de asimetría			
R			

Criterios de aceptación:

DER	≤ 2.0
Factor de asimetría	≤ 1.2
Resolución	≥ 1.4

4.4.4.1 Dictamen



4.4.5 Material y Reactivos

Cantidad	Material
1	Equipo de filtración Wheaton 1000 mL
1	Matraz volumétrico de 2000 mL
	Matraz volumétrico de 200 mL
3	Matraz volumétrico de 100 mL
4	Matraz volumétrico de 50 mL
1	Pipeta volumétrica de 20 mL
1	Pipeta volumétrica de 6 mL
3	Pipeta volumétrica de 2 mL
1	Probeta graduada 1000 mL
1	Probeta graduada 100 mL
1	Matraz volumétrico 1000 mL
3	Barra magnética
1	Pipeta graduada 5 mL
2	Vaso de precipitados de 250 mL
3	Parrilla con agitación
3	Espátula
3	Nave de pesado
	Viales para HPLC
1	Frasco Wheaton de 2 L
1	Sonicador

Reactivos

Agua HPLC

Metanol HPLC

Ácido acético

Sustancia de referencia

Acetaminofeno

Aspirina

Cafeína

Otros materiales

Acrodiscos 0.45 μm

Jeringas de vidrio

Membranas de filtración de 0.45 μm

Muestra

Muestra compuesta de tabletas de acetaminofeno, aspirina y cafeína

4.4.6 Resultados

4.4.6.1 Registre las características de los equipos/instrumentos empleados y las masas de las sustancias de referencia pesadas en la siguiente Tabla:

Equipo/instrumento utilizado	
Balanza analítica	Marca:
	Número interno:
Masas de las sustancias de referencia	
Masa del acetaminofeno:	
Pureza	
Proveedor/marca	
Masa de la aspirina	
Pureza	
Proveedor/marca	
Masa de la cafeína	



Pureza	
Proveedor/marca	
Masas de las muestras	
Preparación de valoración 1	
Preparación de valoración 2	
Preparación de valoración 3	
Cromatógrafo de líquidos	
Marca:	
Modelo:	

4.4.6.2 Registre los cromatogramas de la *Preparación estándar* y de las *Preparaciones de valoración*. Anexe una fotografía de los cromatogramas obtenidos y registre los datos en la siguiente Tabla.

Áreas de los picos para los tres fármacos

Preparación	Área (mAU)		
	Acetaminofeno	Aspirina	Cafeína
Estándar			
Valoración 1			
Valoración 2			
Valoración 3			

Calcule el porcentaje de acetaminofeno, aspirina y cafeína en la porción de tabletas tomada mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Área muestra}}{\text{Área std}} \times \frac{\text{Masa estándar}}{200 \text{ mL}} \times \frac{20 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} \times \frac{2.500 \text{ mL}}{\text{Masa de la muestra}} \times \frac{\text{Peso promedio}}{\text{Cantidad indicada en el marbete}} \times 100 = \% \text{ fármaco}$$

Cálculos:



4.4.6.4 Con los porcentajes obtenidos calcule el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Registre los datos en la siguiente Tabla.

Con base en los resultados obtenidos indique si las tabletas cumplen con el criterio de aceptación

Porcentajes de fármacos

Muestra	Acetaminofeno	Aspirina	Cafeína
1			
2			
3			
\bar{x}			
S			
CV			

4.4.6.5 Observaciones

4.4.6.7 Dictamen



4.5 Uniformidad de dosis

Nota: Antes de realizar la prueba de Uniformidad de Dosis, el alumno, deberá consultar, en la edición vigente de la *United States Pharmacopoeia* el método <905>.

4.5.1 Introducción

La uniformidad de dosis se puede demostrar por los métodos de *Variación de masa* o *Uniformidad de contenido*. A menos que se especifique otra cosa en la monografía, los requisitos se aplican, de manera individual, para cada ingrediente activo en un medicamento tanto en unidades de dosis que contengan un solo ingrediente activo como aquellas que contengan dos o más (FEUM, 2018).

El método de *Variación de masa* se basa en la medición de la masa individual de las unidades de dosis de prueba y la variación, entre ellas, relacionada con el contenido de principio activo. Este método supone una distribución homogénea. El procedimiento aplica para el análisis de cápsulas de gelatina dura y tabletas que contengan 25 mg o más de un principio activo y éste constituya el 25% o más de la masa total o el contenido de tabletas y cápsulas, respectivamente. También, se utiliza para el análisis de sólidos (estériles o no), soluciones orales y cápsulas de gelatina blanda (FEUM, 2018).

El método de *Uniformidad de contenido* se basa en la determinación cuantitativa del contenido individual del principio activo en un determinado número de unidades de dosis única. El objetivo es determinar si la variación de los contenidos individuales se encuentra dentro de los límites establecidos. Se puede aplicar a todas las formas farmacéuticas y es ineludible, por ejemplo, para el análisis de tabletas o cápsulas que contengan 25 mg o menos de principio activo o éste represente menos del 25% de la masa total de las tabletas o el contenido de las cápsulas (FEUM, 2019).

Con base en lo antes expuesto el método para evaluar la Uniformidad de dosis de este medicamento dependerá de la dosis y la masa de las tabletas.

Por otro parte, la especificación USP, para este medicamento indica que las tabletas deben cumplir con los requisitos de Uniformidad de Contenido con respecto a paracetamol, aspirina y cafeína. Con base en este requisito y considerando que uno de los objetivos de este protocolo experimental reside en realizar el análisis comparativo entre el medicamento de referencia y diversos productos genéricos, la Uniformidad de dosis, se demostrará empleando la metodología de Uniformidad de contenido.

La USP, en el Método <905>, establece que si la monografía del preparado farmacéutico no describe un método de análisis especial para la *Uniformidad de contenido* deberá emplearse la metodología del ensayo de valoración para demostrar esta característica de calidad. Para ello, si la cantidad de principio activo, en cada unidad de dosis, difiere de la requerida para la prueba de valoración, será necesario ajustar el grado de dilución de las soluciones y/o el volumen de las alícuotas, hasta que la concentración de los principios activos en la solución final sea igual al del procedimiento de valoración. Se cumple con los requisitos de uniformidad de dosis si el valor de aceptación (VA) de las primeras 10 unidades de dosificación no es mayor que L1% (15.0).



4.5.2 Procedimiento

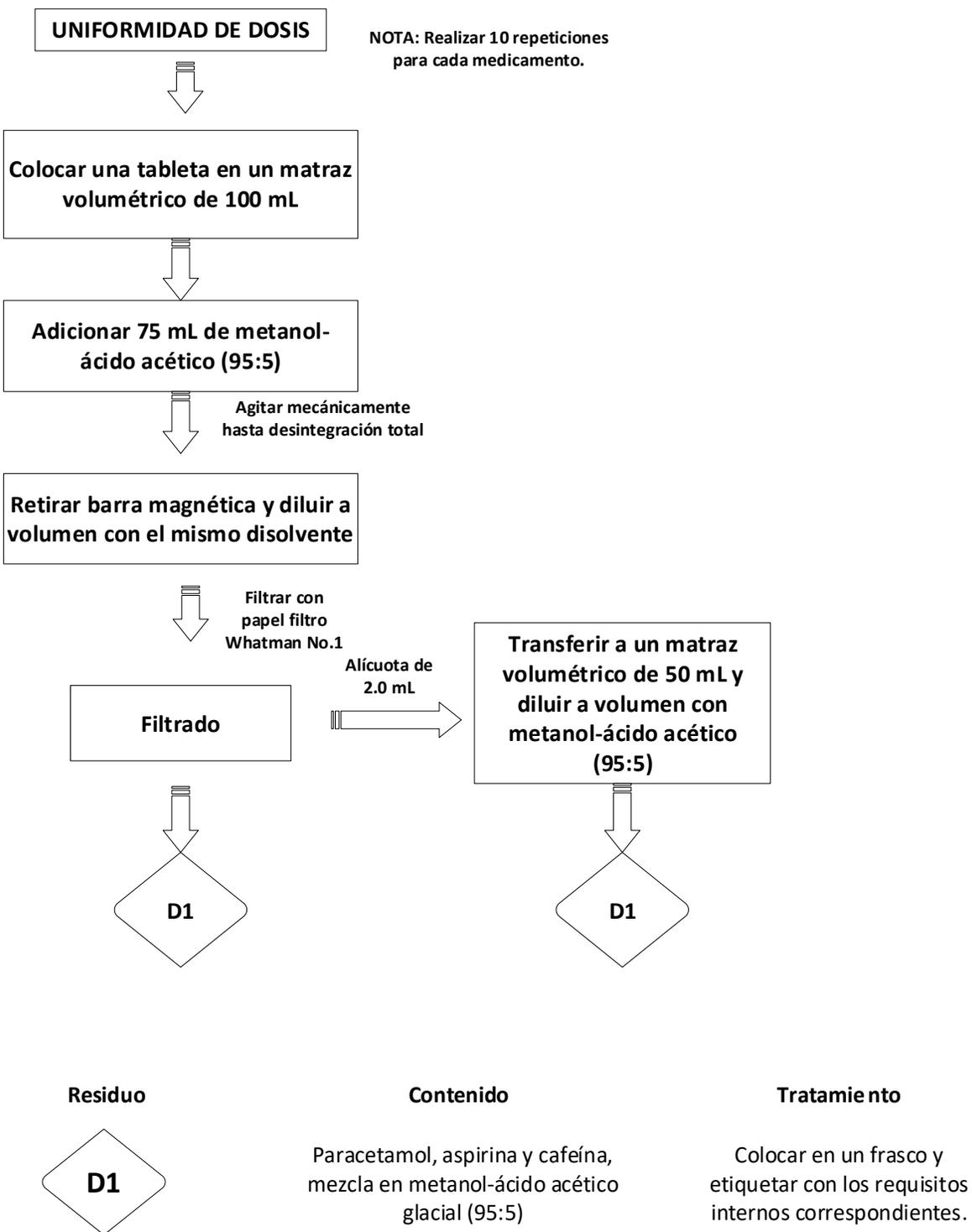
Solución madre del estándar: Pesar 50 mg de paracetamol, 50 mg de aspirina y 13 mg de cafeína y transferirlos a un matraz volumétrico de 200 mL; disolver con *Mezcla de disolventes* y diluir a volumen con el mismo disolvente.

Preparación estándar: Transferir 20.0 mL de *Solución madre del estándar* a un matraz volumétrico de 50 mL, diluir a volumen con *Mezcla de disolventes* y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 0.1 mg/mL de ER Acetaminofeno USP, 0.1 mg/mL de ER Aspirina USP y 0.026 mg/mL de cafeína.

Preparación de valoración: Transferir una tableta a un matraz volumétrico de 100 mL. Agregar 75 mL de *Mezcla de disolventes* y agitar mecánicamente durante 30 minutos. Diluir a volumen con *Mezcla de disolventes* y mezclar. Transferir 2.0 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 50 mL, diluir a volumen con *Mezcla de disolventes* y mezclar.

Procedimiento: Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ L) de la *Preparación estándar* y de las *Preparación muestras*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes a los picos principales.

4.5.3 Con base en la información proporcionada elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.





4.5.4 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Matraz volumétrico de 200 mL
10	Matraz volumétrico de 100 mL
11	Matraz volumétrico de 50 mL
1	Pipeta volumétrica de 20 mL
10	Pipeta volumétrica de 2 mL
2	Probeta graduada 100 mL
2	Vaso de precipitados de 250 mL
10	Barra magnética
3	Espátula
3	Nave de pesado
10	Parrilla con agitación
	Viales para HPLC

Reactivos

Agua HPLC

Metanol HPLC

Ácido acético

Sustancia de referencia

Acetaminofeno

Aspirina

Cafeína

Otros materiales

Acrodiscos 0.45 μm

Jeringas de vidrio

Muestra

10 tabletas de acetaminofeno, aspirina y cafeína

4.5.5 Resultados

Registre los cromatogramas de la *Preparación estándar* y de las *Preparaciones muestra*. Registre los datos obtenidos en la siguiente Tabla.

Tableta	Áreas (mAU)		
	Acetaminofeno	Aspirina	Cafeína
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

4.5.5.1 Calcule el porcentaje de acetaminofeno, aspirina y cafeína por tableta mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Área muestra}}{\text{Área std}} \times \frac{\text{Masa estándar}}{200 \text{ mL}} \times \frac{20 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} \times \frac{2500 \text{ mL}}{\text{Masa de la muestra}} \times 100 = \% \text{ fármaco}$$



Cálculos:



4.5.5.2 Registre los porcentajes obtenidos, para cada fármaco, en la siguiente Tabla:

Tableta	Acetaminofeno	Aspirina	Cafeína
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
Promedio			
S			
VA			

Calcule el promedio, la desviación estándar (S) y el valor de aceptación para cada fármaco. Registre los datos en la misma Tabla.

Con base en los resultados obtenidos indique si las tabletas cumplen con el criterio de aceptación

Cálculos:



Criterios de aceptación: L1; máximo valor de aceptación permitido en porcentaje.

4.5.6 Observaciones

4.5.6 Dictamen



5. Conclusiones finales del trabajo experimental

5.1 Considerando las determinaciones realizadas (identidad, valoración y uniformidad de dosis) y con base en los resultados obtenidos indique si las tabletas cumplen con las especificaciones indicadas en la monografía.

5.2 Explique, brevemente, si los métodos descritos en la USP son adecuados para analizar las diferentes marcas de tabletas.

5.3 Realice un análisis comparativo entre los resultados derivados del análisis del producto de referencia (Excedrin) y los productos genéricos.



6. Cuestionario

6.1 ¿Qué es la adecuabilidad del sistema?

6.2 ¿Qué es una fase reversa?

6.3 ¿Considera que la metodología realizada sería de utilidad para analizar una dosificación de tabletas de 650mg y 65 mg de paracetamol y cafeína, respectivamente? Explique su respuesta



7. Bibliografía

- MGA 0299. Uniformidad de Dosis. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 350-356.
- 〈905〉 Uniformity of Dosage Units. En: The United States Pharmacopeia. 41 Edition, NF 36, 2018, United Book Press, Inc., Baltimore, MD, 6673-6677.
- Acetaminophen, Aspirin and Caffeine Tablets. En: The United States Pharmacopoeia. 41 Edition, NF 36, 2018, United Book Press, Inc., Baltimore, MD, 42-43.



CERTIFICADO DE ANÁLISIS

Producto:
Número de lote:
Fabricante:
Presentación:
Fecha de caducidad:
Fecha de recepción:

PRUEBA	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	DICTAMEN												
Descripción															
Identidad															
Uniformidad de dosis		VA acetaminofeno: VA aspirina: VA cafeína:													
Valoración		<table border="1"><thead><tr><th>Tableta</th><th>% Fármaco</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td></td></tr><tr><td>2</td><td></td></tr><tr><td>3</td><td></td></tr><tr><td></td><td>\bar{x}</td></tr><tr><td></td><td>CV</td></tr></tbody></table>	Tableta	% Fármaco	1		2		3			\bar{x}		CV	
Tableta	% Fármaco														
1															
2															
3															
	\bar{x}														
	CV														

Nombre y firma del analista:	Aprobado por:
	Fecha: