



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO
Y SU PRODUCTO DE HIDRÓLISIS MEDIANTE CROMATOGRFÍA
LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

RENTERIA SINCHE TATIANA ELIZABETH
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO
ACETILSALICÍLICO Y SU PRODUCTO DE HIDRÓLISIS
MEDIANTE CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA
RESOLUCIÓN

RENTERIA SINCHE TATIANA ELIZABETH
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO Y SU
PRODUCTO DE HIDRÓLISIS MEDIANTE CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA
RESOLUCIÓN

RENTERIA SINCHE TATIANA ELIZABETH
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

VALVERDE DURAN SERGIO ANDRES

MACHALA, 22 DE SEPTIEMBRE DE 2021

MACHALA
22 de septiembre de 2021

Identificación y cuantificación de ácido acetilsalicílico y su producto de hidrólisis mediante cromatografía líquida de alta resolución

por Tatiana Elizabeth Rentería Sinche

Fecha de entrega: 27-sep-2021 06:54p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1659233899

Nombre del archivo: RENTERIA_SINCHE_TATIANA_ELIZABETH.pdf (115.99K)

Total de palabras: 2980

Total de caracteres: 16257

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, RENTERIA SINCHE TATIANA ELIZABETH, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Identificación y cuantificación de ácido acetilsalicílico y su producto de hidrólisis mediante cromatografía líquida de alta resolución, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de septiembre de 2021



RENERIA SINCHE TATIANA ELIZABETH
0706264686

AGRADECIMIENTO

Le doy gracias a Dios, por haberme guiado en todo este trayecto de mi vida y por haberme guiado en cumplir una meta que es ser una profesional; A mis padres Alex Renteria y Nancy Sinche, a mis tíos Edgar Sinche, Humberto Guerrero, y a mi tía Alva Sinche y mis hermanas que estuvieron en todo momento apoyándome día a día en el transcurso de mi carrera.

Finalmente, a mi tutor quien con su vocación y paciencia supo guiarme durante el desarrollo de mi proyecto de titulación.

Tatiana Renteria

DEDICATORIA

A mi familia, por ser el motor principal de mi vida y gracias a su apoyo incondicional y económico, por siempre impulsarme a ser mejor y lograr con éxito ser una profesional.

A mis hermanas y demás familia en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

A mi abuelita, que Dios lo tiene en su gloria y ahora en su ángel en mi vida y sé que se encuentra muy orgullosa de su nieta y de donde este me bendice y me cuida siempre.

A Darwin Valdez, por motivarme a nunca rendirme, y siempre brindarme todo su amor y apoyo incondicional en todo momento.

A mis compañeros de la universidad por siempre brindarme su apoyo.

Tatiana Renteria

RESUMEN

El ácido acetilsalicílico es un fármaco utilizado como analgésico, antiinflamatorio y antipirético, disponible en todo el mundo y de uso común. El ácido salicílico es un precursor en la síntesis del ácido acetilsalicílico y también se produce durante su degradación. El método a emplear para determinación y cuantificación de estos analitos, fue el método de cromatografía líquida de alta resolución acoplado a UV-VIS, al ser un método que presenta muchas ventajas y características. Esta técnica se basa en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. Los compuestos a analizar se disuelven en un disolvente adecuado y la mayoría de las separaciones se hacen a temperatura ambiente. Cabe mencionar que el objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico mediante la cromatografía líquida de alta resolución, para su identificación y cuantificación.

Palabras claves: acetilsalicílico, salicílico, cromatografía, hidrólisis.

ABSTRACT

Acetylsalicylic acid is a drug used as an analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic, available worldwide and in common use. Salicylic acid is a precursor in the synthesis of acetylsalicylic acid and is also produced during its degradation. The method to be used for the determination and quantification of these analytes was the high-performance liquid chromatography method coupled with UV-VIS, as it is a method that has many advantages and characteristics. This technique is based on a solid stationary phase and a liquid mobile phase. The compounds to be analyzed are dissolved in a suitable solvent and most separations are made at room temperature. It is worth mentioning that the objective of this research was to determine the presence of acetylsalicylic acid and salicylic acid by means of high-resolution liquid chromatography, for their identification and quantification.

Keywords: acetylsalicylic, salicylic, chromatography, hydrolysis.

ÍNDICE

1.INTRODUCCIÓN	6
2.OBJETIVO	8
2.1 Objetivo general	8
3.DESARROLLO	8
3.1 Ácido acetilsalicílico	8
3.1.1 Propiedades físicas y químicas	8
3.1.2 Hidrólisis del ácido acetilsalicílico	9
3.2 Ácido salicílico	9
3.2.1 Propiedades físicas -químicas	10
3.3 Control de calidad de medicamentos	10
3.4 Cromatografía líquida de alta resolución	10
3.4.1 Selección de modo de operación de la cromatografía líquida de alta resolución.	11
3.4.2 Sistema de suministro de fase móvil	11
3.4.3 Columna cromatográfica	12
3.4.4 Sistema de inyección de la muestra	12
3.4.5 Detector	12
4. METODOLOGÍA	13
5. CASO PRÁCTICO	13
5.1 Solución al problema planteado	13
5.1.2 ¿Qué método cromatográfico instrumental, usted seleccionaría para identificar y cuantificar el ácido acetilsalicílico y su producto de hidrólisis?	13
6. CONCLUSIÓN	17
7. BIBLIOGRAFÍA	18
8. ANEXO	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Validación del método de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación y cuantificación del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.	15
---	-----------

ÍNDICE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Estructura del ácido acetilsalicílico.	8
Ilustración 2: Hidrólisis del ácido acetilsalicílico.	9
Ilustración 3: Estructura del ácido salicílico.	10

1.INTRODUCCIÓN

El ácido acetilsalicílico (AAS), es una droga de color blanco de consistencia sólida e incolora, se los encuentra en forma de cristales de agujas. Químicamente es ligeramente soluble en agua, fácilmente soluble en alcohol, éter y cloroformo. Es uno de los medicamentos de mayor consumo en el mundo. Presenta propiedades antiinflamatorias, analgésica y antipiréticas.¹ En presencia de humedad se hidroliza en ácido salicílico lo que provoca que su degradación cause toxicidad e irritación en la mucosa gástrica, por lo que solo se lo puede usar de manera tópica, por lo anteriormente explicado es necesario identificar y cuantificar el ácido salicílico en la industria farmacéutica. Es por esta razón que estos medicamentos deben cumplir con todas especificaciones de control de calidad para brindar eficacia, estabilidad y seguridad al momento de su consumo.²

De esta manera a través de la técnica de análisis de cromatografía líquida de alta resolución, es posible determinar la calidad y estabilidad de los fármacos. El principio de esta técnica se basa en la separación de componentes de una sustancia, el cual consta de dos fases; una fase móvil líquida y una fase estacionaria sólida. Tales fases presentes en las diferentes muestras son escogidas dependiendo de las propiedades físico-químicas que tenga el compuesto. Las interacciones químicas entre la fase móvil y la muestra y entre la muestra y fase estacionaria van a determinar el grado de polaridad y la separación de los compuestos aislados de las muestras.³

Estas características permiten que esta técnica sea la más adecuada para analizar una variedad de analitos de manera eficiente y contar con gran variedad de ventajas tales como: no requieren de purificaciones exhaustivas, se pueden usar cantidades pequeñas de disolventes, se usan analitos de cualquier peso molecular, y además de ofrecer la separación de analitos a temperaturas ambiente.⁴

La aplicación de este método es de suma importancia ya que permite un mejor análisis de los productos farmacéuticos y de sus principios activos usados en su fabricación y así proporcionar resultados exactos, fiables y adecuados, para que cumpla el control de calidad.

Por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo determinar la presencia del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico mediante la cromatografía líquida de alta resolución, para su identificación y cuantificación.

2.OBJETIVO

2.1 Objetivo general

- Determinar la presencia de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico mediante la cromatografía líquida de alta resolución, para su identificación y cuantificación.

3.DESARROLLO

3.1 Ácido acetilsalicílico

El ácido acetilsalicílico, que se muestra en la Ilustración 1, más conocido como aspirina, es un fármaco antiinflamatorio no esteroide, que pertenece a la familia de los salicilatos.⁵ Actúa como antiagregante plaquetario, antipirético, antiinflamatorio y analgésico. Juega un papel importante en la industria farmacéutica para el alivio de síntomas moderados o leves tales como: dolor de cabeza, fiebre, dolor muscular y prevención de la trombosis venosa, debido a su efecto inhibidor de la COX y prostaglandinas.^{6,7}

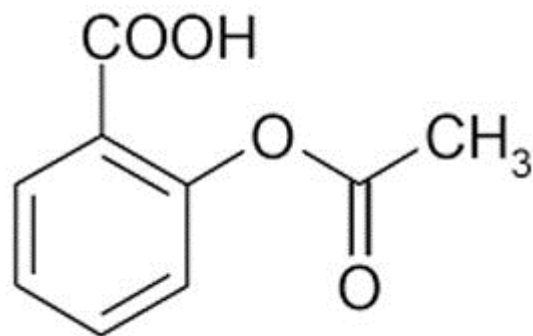


Ilustración 1: Estructura del ácido acetilsalicílico.^{6,7}

3.1.1 Propiedades físicas y químicas

Su peso molecular es 180.15 g/mol, cuya estructura molecular es $C_9H_8O_4$. Tiene un aspecto de polvo cristalino de color blanco en forma de agujas.⁸ Cuyo sabor es amargo. Es medianamente soluble en agua, muy soluble en alcohol, éter, soluciones de acetato y nitrilo, y cloroformo. En condiciones ambientales se hidroliza en ácido salicílico y ácido acético.⁹

3.1.2 Hidrólisis del ácido acetilsalicílico

La hidrólisis del éster puede ser catalizada por ácido o inducida por una base. Durante esta reacción, el enlace sencillo carbono-oxígeno del éster se rompe y el grupo hidroxilo de una molécula de agua reemplaza al grupo alcoxi del éster. Se producirán dos moléculas cuando se hidrolice la aspirina.¹⁰ Una molécula contendrá un grupo de ácido carboxílico que estaba presente en la molécula de aspirina original y un grupo hidroxilo recién formado. La segunda molécula contiene un grupo de ácido carboxílico recién formado. Esto dará como resultado la formación del ácido salicílico y el ácido acético. En la Ilustración 2, presenta la hidrólisis de la reacción del ácido acetilsalicílico.¹¹

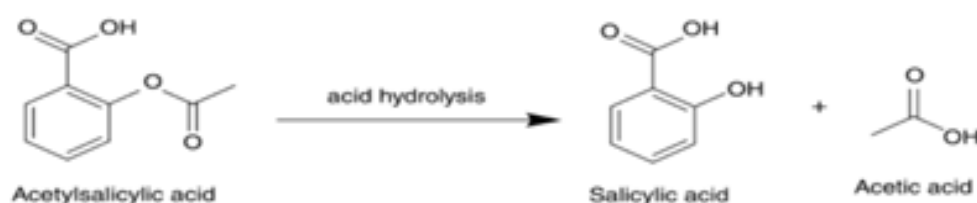


Ilustración 2: Hidrólisis del ácido acetilsalicílico.¹¹

3.2 Ácido salicílico

El ácido salicílico químicamente llamado (ácido 2-hidroxibenzoico), con propiedades queratolíticas y antimicrobianas. Se usa principalmente en el tratamiento dermatológico del acné, eliminación de verrugas y promover la descamación epidérmica. En la Ilustración 3, se presenta la estructura molecular.¹²

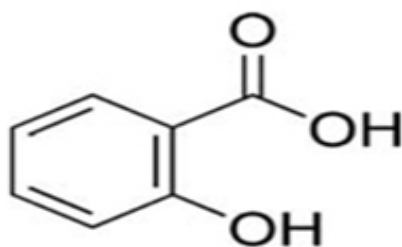


Ilustración 3: Estructura del ácido salicílico.¹²

3.2.1 Propiedades físicas -químicas

Es un polvo de color blanco cristalino. Su fórmula estructural es $C_7H_6O_3$ y su peso molecular es 138.1g/mol. Su forma sintética es inodora y blanca. Es ligeramente soluble en agua, altamente soluble en alcohol, éter, cloroformo y benceno. Industrialmente se lo puede sintetizar a partir del dióxido de carbono y sodio fenólico por sustitución electrofílica.¹³

3.3 Control de calidad de medicamentos

El control de calidad de un producto farmacéutico, es un conjunto de propiedades, funcionamiento y características que presenta un producto, con el fin de garantizar y asegurar su eficacia e inocuidad durante todo su tiempo de vida útil.¹⁴ Para garantizar todas estas condiciones de calidad, se requieren seguir 3 parámetros fundamentales: la eficacia del principio activo; la seguridad del medicamento que es determinada por la correcta dosificación, menor efectos secundarios; y la estabilidad del medicamento que se basa en la cualidad en la que se debe mantener sus características establecidas como: físicas, microbiológicas, químicas y toxicológicas con la finalidad de garantizar el acceso a medicamentos certificados y de satisfacer las necesidades de la personas que los consume.¹⁵

Con lo anterior mencionado, es importante que se lleve a cabo el control de calidad de los medicamentos mediante la aplicación de métodos cromatográficos los cuales permitirán tener mejores resultados, confiables y reproducibles.

3.4 Cromatografía líquida de alta resolución

Es una técnica ampliamente utilizada debido a su gran sensibilidad y versatilidad, ya que permite obtener excelentes resultados y rapidez, siendo además un buen método para la identificación y cuantificación de componentes.¹⁶ Su fácil adaptación, ha hecho de esta técnica la más idónea para la separación de compuestos orgánicos, inorgánicos, volátiles o termolábiles.¹⁷ Es un sistema que consta de dos fases, una móvil que es un disolvente líquido que contiene a la muestra y una fase estacionaria que es un sólido. Se realiza en columna y por sus características se ha convertido en la técnica más usada para obtener rendimiento, eficacia y calidad.¹⁸

3.4.1 Selección de modo de operación de la cromatografía líquida de alta resolución.

Se pueden mencionar dos tipos de procesos que se pueden usar para operar la cromatografía líquida de alta resolución.

- **Fase normal:** método usado para la separación de analitos en base a su polaridad. Se utiliza una fase estacionaria polar y una fase móvil líquida apolar. Se usan como disolventes en la fase móvil: hexano, cloroformo, éter dietílico.¹⁹
- **Fase reversa:** método usado de primera opción para muestras que contienen sustancias no ionizadas o sales neutras y solubles en mezcla de compuestos orgánicos y agua. Su fase estacionaria es insoluble al agua mientras que la fase móvil es polar, donde emplean mezcla de solventes tales como: agua/metanol o agua/acetonitrilo.²⁰

Los elementos indispensables aplicados en el cromatógrafo líquido son: sistema de suministro de fase móvil, sistema de inyección de muestra, columna y detectores.²¹

3.4.2 Sistema de suministro de fase móvil

Consiste en un sistema de bombeo de alta presión para forzar el paso de la fase móvil a través de la columna, a una velocidad precisa y constante.²²

La naturaleza de la fase móvil es el factor clave en la separación. Puede trabajarse en dos modalidades:

- **Isocrática:** : La fase móvil mantiene su misma composición para su separación y elución, se usa un solo disolvente, o mezclas de disolventes en proporciones constantes en función del tiempo.
- **Gradiente:** La composición se va modificando en función del tiempo durante el análisis. Se pueden utilizar uno o más disolventes de distinta polaridad.

3.4.3 Columna cromatográfica

Las columnas son de acero inoxidable, con una longitud de 3 a 300 mm. Presentan un diámetro de 2 y 5 mm. El tamaño de partícula, está entre 3 a 10 μm . Esta eficiencia se mantiene debido a las variaciones y disminución del tamaño de partícula de la fase estacionaria.²³

Se emplean dos tipos de relleno para las columnas.

- **Relleno pelicular.** Están compuestos por materiales de polímeros no porosos o bolitas de vidrio de un diámetro entre 30-40 μm . En su superficie se deposita en una capa delgada de sílica, polímero y alúmina
- **Partículas porosas:** Son micropartículas porosas con tamaño entre 3-10 μm de sílice, que actúan como fases estacionarias. Son más fáciles de empaquetar, pero menos eficaces que las segundas.

3.4.4 Sistema de inyección de la muestra

La inyección de un volumen preciso de muestra a la entrada de la columna en un corto periodo de tiempo, los volúmenes son unos pocos microlitros. El sistema más utilizado son válvulas rotatorias de alta presión, las cuales se pueden encontrar en dos posiciones. La primera se basa en cargar la muestra con una jeringa, a una presión atmosférica. En la segunda etapa, consiste en girar la válvula para hacer pasar el eluyente hacia la columna.²⁴

3.4.5 Detector

Un detector ideal debería ser sensible a pequeñas concentraciones de analito, dar una respuesta lineal amplia, tener poco ruido de fondo y ser estable en el tiempo que dura el cromatograma. Entre los más usados tenemos: espectrofotométricos, electroquímicos.²⁵

4. METODOLOGÍA

La metodología empleada para la resolución de la presente investigación es de tipo descriptiva no experimental, realizada mediante revisión bibliográfica de artículos científicos relacionados con el tema, los cuales han sido encontrados en Google académico, Pubmed, Scielo, Redalycs, Science Direct, Research.

5. CASO PRÁCTICO

1) Contexto o situación del problema (caso práctico)

En un laboratorio de control de calidad se sospecha que un lote de tabletas de ácido acetilsalicílico ha sufrido hidrólisis durante su almacenamiento. Esta situación afecta la calidad de la forma farmacéutica y se debe verificar la integridad química de dicho ácido. Para determinar si el fármaco se ha hidrolizado, se debe seleccionar un método cromatográfico instrumental.

2) Pregunta o preguntas a resolver. La pregunta para resolver el caso

¿Qué método cromatográfico instrumental, usted seleccionaría para identificar y cuantificar el ácido acetilsalicílico y su producto de hidrólisis?

5.1 Solución al problema planteado

5.1.2 ¿Qué método cromatográfico instrumental, usted seleccionaría para identificar y cuantificar el ácido acetilsalicílico y su producto de hidrólisis?

Siendo el ácido acetilsalicílico un compuesto consumido y vendido mundialmente, gracias a sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiplaquetarias. Debido a su estructura química es estable en aire seco, pero en contacto con la humedad se hidroliza

en ácido salicílico, siendo este un compuesto ulcerogénico, por lo que solo se lo puede utilizar de manera externa. Con lo mencionado es de suma importancia que se lleve a cabo la validación de métodos cromatográficos, como herramientas para establecer seguridad, eficacia y estabilidad durante su proceso y consumo de este medicamento.²⁶

Existen varios métodos cromatográficos que permiten la identificación y cuantificación de este compuesto tales como: cromatografía de capa delgada, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución.

La cromatografía en capa delgada es un método sencillo, rápido que requiere de pequeñas cantidades de analito que permiten el aislamiento e identificación de metabolitos de interés. Gracias al uso de la incorporación de densitometría UV, como método cuantitativo, se ha caracterizado por brindar una mejor velocidad y precisión del analito, sin embargo, sus análisis no son tan sensibles a muestras complejas.²⁷

La cromatografía de gases, es una técnica muy usada para separación, determinación de pureza de los analitos volátiles. Entre las desventajas que presenta esta cromatografía, una de ellas es que no se pueden analizar compuestos poco volátiles e iónicos y con peso molecular alto.²⁸ Por esta razón este método cromatográfico no sería aplicable a la identificación y cuantificación de ácido acetilsalicílico.

Por otro lado, la cromatografía líquida de alta resolución se ha convertido en una de las herramientas más usadas ya que presenta muchas ventajas y tiene la capacidad de identificar, aislar y cuantificar compuestos orgánicos, volátiles y no volátiles. A continuación, se mencionan las razones por las cuales se considera que este es el método más adecuado para la identificación y cuantificación de ácido acetilsalicílico.²⁹

Entre muchas de sus ventajas técnicas, este tipo de método tiende a ser más simultáneo, estable y con mejor repetibilidad, y alta versatilidad, menor tiempo de elución de la muestra, y además de contar con una mejor capacidad de sensibilidad y resolución de los componentes que las cromatografías de capa delgada, fina y de gases.³⁰

Como parte de la instrumentación la cromatografía líquida de alta resolución incluye detectores, que son una parte fundamental para el equipo, por lo que su elección va depender de la naturaleza química, además de considerar características como respuesta universal, linealidad, y estabilidad. Su introducción a la cromatografía líquida de alta

resolución mejora su sensibilidad facilitando así la cuantificación y determinación de los analitos en la muestra.³¹

En el caso del compuesto ya mencionado, se han realizado estudios utilizando diferentes detectores o técnicas analíticas en combinación o independientes con el método, como detectores de matriz de diodos, espectrometría de masas, que hacen énfasis para el análisis rutinario y de los principios activo del ácido acetilsalicílico, y por último la detección UV-VIS, que ha sido la herramienta más usada y preferida por ser un detector específico, confiable, de gran selectividad e insensible a la temperatura.³² El ácido acetilsalicílico por cromatografía líquida de alta resolución son captados por lo general a 240 nm , mientras que el ácido salicílico a 290 nm ;debido a la elución se identifican basándose en una comparación del tiempo de retención del estándar de referencia.³³

Finalmente, para que todos los métodos y técnicas de análisis sean un instrumento de selección debe cumplir con una variedad de requisitos, para tener una mejor optimización.³⁴ La validación de un método es un procedimiento analítico, por el cual se miden las características en función del rendimiento del proceso a elegir, establecidos por las normas de consejo Internacional de Armonización (ICH); estos deben cumplir con ciertos parámetros tales como linealidad, selectividad, precisión, repetibilidad, exactitud, límites de cuantificación y límite de detección.³⁵

En los últimos años el uso de productos farmacéuticos como el ácido acetilsalicílico, sigue siendo de gran interés por diversos investigadores debido a sus diferentes propiedades farmacológicas y aplicaciones en la industria farmacéutica.³⁶ Por lo que se requiere seguir un adecuado control de calidad, mediante la aplicación de métodos cromatográficos, por lo cual se han realizado varios estudios con diferentes métodos aplicados a este analito para su determinación y cuantificación.

Muchos de estos estudios se han realizado por el método de cromatografía líquida de alta resolución, los cuales han sido validados para verificar la idoneidad del método, como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Validación del método de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación y cuantificación del ácido acetilsalicílico y ácido salicílico.

Fármacos	UV-VIS	Fase móvil y estacionaria	Velocidad de flujo	Tiempo de retención	Autores
Aspirina y Ácido salicílico	229 nm Aspirina 296 nm Ácido salicílico	Agua: acetonitrilo (90: 10 v/v) Phenomenex C18 columnna (50 × 4.6 mm, 3µm)	1.0 ml/min	1.8 y 2.9 min	(Saeed, Hamzah y Ahmed, 2018)
Ácido acetilsalicílico y Ácido salicílico	230 nm Ácido acetilsalicílico y Ácido salicílico	Acetonitrilo: solución acuosa de ácido trifluoroacético, 0,05% (30:70 v/v) Novapack C18 (150 x 3.9 mm, 4µm)	1.0 ml/min	1.61 y 2.72 min	(De Aguiar et al., 2009)
Ácido acetilsalicílico y su hidrólisis	237 nm Ácido acetilsalicílico y su hidrólisis	Agua-acetonitrilo-ácido ortofosfórico (68: 32: 0,2 v / v / v) Kinetex C18 columnna (50 × 4.6 mm, 2.6 µm)	0.8 ml/min	1.9 y 2.53 min	(Lonca et al., 2018)

Fuente:⁴⁰⁻⁴²

Los siguientes estudios fueron realizados en dos combinaciones de compuestos, los cuales fueron estudiados en diferentes formas farmacéuticas, empleando diferentes disolventes y concentraciones en la fase móvil, y el empleo de columnas con diferentes longitudes para la validación del método.

Así mismo en estos estudios se pueden apreciar que la técnica de cromatografía líquida de alta resolución, es un método eficaz, rápido, para identificación y cuantificación de los compuestos analizados, además que las condiciones mencionadas para la elección de este método se pueden apreciar en la tabla 1.

6. CONCLUSIÓN

Es de suma importancia que se lleve a cabo un control de calidad de las impurezas orgánicas y su producto de degradación presentes en los diferentes compuestos farmacéuticos. Por ello es necesario disponer de métodos analíticos que permitan la cuantificación e identificación del analito a analizar.

El método de cromatografía líquida de alta resolución, se puede usar para la separación del compuesto que se va a analizar, que según sus propiedades físico-químicas se emplea el tipo de solvente. Además, esta técnica tiene como ventaja su gran sensibilidad, rapidez y versatilidad debido a los diferentes modos de operación que ofrece.

Al poseer estas características es de importancia que estas sean validadas a través del cumplimiento de parámetros que le den una validación al método para utilización del estudio y obtener datos que sean específicos, exactos y precisos. También es importante aludir que para aumentar su potencia se hace uso de los detectores que se encuentran acoplados de manera independiente.

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Singal, A.; Karthikeyan, G. Aspirin for Primary Prevention: Is This the End of the Road? *Indian Heart J.* **2019**, *71* (2), 113–117. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2019.04.001>.
- (2) Shokrollahi, A.; Mohammadpour, Z.; Abbaspour, A. Structure of Chemical Compounds, Methods of Analysis and Colorimetric Determination of Free Salicylic Acid in Aspirin and Urine by Scanometry as a New Reliable, Inexpensive and Simple Method. *Pharm. Chem. J.* **2017**, *51*. <https://doi.org/10.1007/s11094-017-1607-2>.
- (3) Choque, C. Desarrollo de Un Método Analítico Indicador de Estabilidad y Biodisponibilidad En Vitro Por Hplc Para Microencapsulado de Acido Acetilsalicílico y Cafeína. *Rev. CON-CIENCIA N°1* **2014**, *2*, 103–115.
- (4) Darwish, K.; Salama, I.; Mostafa, S.; El-sadek, M. Validated Stability-Indicating Reversed-Phase-HPLC Method for Simultaneous Determination of Orphenadrine Citrate, Caffeine and Aspirin. *Chem. Pharm. Bull.* **2012**, *60* (11), 1426–1436. <https://doi.org/10.1248/cpb.c12-00596>.
- (5) De Aguiar, J. L.; Leandro, K. C.; Abrantes, S. D. M.; Albert, A. L. Development of a New Analytical Method for Determination of Acetylsalicylic and Salicylic Acids in Tablets by Reversed Phase Liquid Chromatography. *Brazilian J. Pharm. Sci.* **2009**, *45* (4), 723–727. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400016>.
- (6) Clay, M. .; McLeod, E. . Detection of Salicylic Acid in Willow Bark: An Addition to a Classic Series of Experiments in the Introductory Organic Chemistry Laboratory. *J. Chem. Educ.* **2012**, *89* (8), 1068–1070. <https://doi.org/10.1021/ed300070s>.
- (7) Velázquez, O. Uso de Ácido Acetilsalicílico (AAS) a Baja Dosis Más Esomeprazol En Tabletas de Combinación Fija. *Investig. Clin.* **2017**, *58* (4), 376–392.

- (8) González, C. G.; Ángulo, A. R.; Quezada, M. N.; Plúas, G. E. Detección Espectrofotométrica Y Cuantificación De Ácido Acetil Salicílico En Fármacos. Spectrophotometric Detection and Quantification of Salicylic Acetyl Acid in Drugs. **2018**.
- (9) Topor, G.; Nechita, A.; Debita, M.; Ciupilan, C.; Axente, E. R. General and Particular Structural Characteristics of Acetylsalicylic Acid - Aspirine Chemical Properties. *Rev. Chim.* **2019**, *70* (1), 248–253. <https://doi.org/10.37358/rc.19.1.6893>.
- (10) Vargas, G.; Obaya, A.; Miranda, R.; Gómez, R.; Mendoza, J.; Vargas, Y. Hidrólisis Básica Del Ácido Acetilsalicílico En Medio No Amortiguado: Un Experimento De Laboratorio Con Un Acercamiento Verde Basic Hydrolysis of Acetylsalicylic Acid in an Unbuffered Medium: A Green Approach Laboratory Experiment. *Av. cien. ing* **2017**, *8* (4), 47–58.
- (11) Motan, G.; Pui, A. Studies of Different Types of Aspirin by Spectrophotometric Methods. *Acta Chem. Iasi* **2014**, *22* (2), 155–164. <https://doi.org/10.2478/achi-2014-0013>.
- (12) Abass, A.; Rzaïj, J.; Ghalib, H.; Kadhum, W. A Review on a Some Analytical Methods for Determination of Salicylic Acid. *Open Access J. Chem.* **2019**, *3* (3), 22–28.
- (13) Cuellar, L.; Sehtman, A.; Donatti, L.; Allevato, M. Acido Salicílico. *Act Ter. Dermatol* **2008**, *31*, 108–112.
- (14) Vera, O. La Falsificación De Medicamentos: Un Riesgo De Enorme Gravedad Para La Salud Pública. *Rev. Médica La Paz* **2019**, *25* (1), 102.
- (15) Haleem, R. .; Salem, M. .; Fatahallah, F. .; Abdelfattah, L. . Quality in the Pharmaceutical Industry - A Literature Review. *Saudi Pharm. J.* **2015**, *23* (5), 463–469. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2013.11.004>.
- (16) Anca, T.; Laurian, V.; Ilioara, O.; Daniela, B.; Mircea, T. HPLC Analysis of Salicylic Derivatives from Natural Products. *Farmacia* **2011**, *59* (1).

- (17) Pérez, E.; Rodríguez, R. Comparación de Dos Métodos Cromatográficos Para Determinar Clorotalonil En Un Fungicida Comercial. *UNED Res. J.* **2019**, *11* (3), 334–344. <https://doi.org/10.22458/urj.v11i3.2627>.
- (18) Laghari, M. G. H.; Darwis, Y.; Memon, A. H. New Spectrophotometric Methods for the Determination of P-Aminosalicylic Acid in Tablets. *Trop. J. Pharm. Res.* **2014**, *13* (7), 1133–1139. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i7.18>.
- (19) Mayolo, K.; M., M.; Rito, M. Chromatographic Techniques and Their Application to Studies of Conformational Changes, Stability and Refolding of Proteins. *Rev. Mex. Ing. Quim.* **2012**, *11* (3), 415–429.
- (20) Romero, C. *Evaluación de La Eficiencia de Una Columna de HPLC Empacada Con Sílica C18*; Universidad Central Del Ecuador: Quito, 2020.
- (21) Coskun, O. Separation Tecniques: CHROMATOGRAPHY. *North. Clin. Istanbul* **2016**, *3* (2), 156–160. <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>.
- (22) Rigo, R.; Canalias, F.; Esteve, S.; Gella, F.; González, B.; López, R. Development of Measurement Procedures Based on High-Performance Liquid Chromatography. *Rev. del Lab. Clin.* **2018**, *11* (3), 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.05.001>.
- (23) Salguero, E. *Validación Del Método Analítico Por Cromatografía Líquida De Alta Eficiencia Para La Cuantificación De Ceftriaxona Solución Inyectable (Ig) En La Industria Betapharma S.A*; Escuela Superior Politécnica De Chimborazo: Riobamba, 2016.
- (24) Hernández, A. de J. Validación de Un Método Cromatográfico Para El Análisis de Paracetamol, Cafeína y Ácido Acetilsalicílico En Medicamentos Comerciales, 2015.
- (25) Suarez, D.; Morales, Y. Principios Básicos de La Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento Para La Separación y Análisis de Mezclas. *América Rev. Semilleros Form. Investig.* **2018**, *4*.

- (26) Lara, O.; Carlos, J.; Teloxa, F.; Mora, C.; Rosalía, I. Impurezas Orgánicas Observadas En El Proceso de Manufactura de Las Sustancias Activas. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* **2016**, *47* (1), 7–24.
- (27) Ciura, K.; Dziomba, S.; Nowakowska, J.; Markuszewski, M. J. Thin Layer Chromatography in Drug Discovery Process. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1520*, 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.09.015>.
- (28) Smith, J.; Loxley, K.; Sheridan, P.; Hamilton, T. M. Analysis of Caffeine in Beverages Using Aspirin as a Fluorescent Chemosensor. *J. Chem. Educ.* **2016**, *93* (10), 1776–1780. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.6b00303>.
- (29) Rasool Hassan, B. A. HPLC Uses and Importance in the Pharmaceutical Analysis and Industrial Field. *Pharm. Anal. Acta* **2012**, *03* (09), 4172. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000e133>. no se encuentra este DOI
- (30) Sanjay, K. D.; Kumar, H. D. . Importance of RP-HPLC in Analytical Method Development: A Review. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2012**, *3* (12), 4626–4633.
- (31) Swartz, M. HPLC Detectors: A Brief Review. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2010**, *33* (9–12), 1130–1150. <https://doi.org/10.1080/10826076.2010.484356>.
- (32) Liang, I.; Reena, R. Ultraviolet-Visible Spectrophotometry (UV-VIS) and SALIgAE® Qualitative and Semi-Quantitative Tools for the Analysis of Salivary Amylase. *J. Forensic Res.* **2014**, *5* (2157–7145), 5. no se encontró este artículo
- (33) Yadav, V.; Meenaksh, B. Review on HPLC Method Development and Validation. *Reseach J. life Sci. Pharm. Chem. Sciences* **2017**, No. 2454–6348.
- (34) Sudev, S.; Janardhanan, S. Review Article Review on HPLC Method Development Validation and Optimization 1. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. Available* **2019**, *56* (05), 28–43.

- (35) Athota, R. V.; Jagarlapudi, S. K.; Singampalli, M. R. Stability Indicating HPLC Method for the Simultaneous Quantification of Aspirin and Pravastatin in Bulk and Tablets: Method Development and Validation. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2017**, *7* (3), 48–56. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70308>.
- (36) Kalmár, É.; Gyuricza, A.; Kunos-Tóth, E.; Szakonyi, G.; Dombi, G. Simultaneous Quantification of Paracetamol, Acetylsalicylic Acid and Papaverine with a Validated HPLC Method. *J. Chromatogr. Sci.* **2014**, *52* (10), 1198–1203. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt177>.
- (37) Omerdić, E.; Alagić, L.; Krstić, M.; Pašić, M.; Odović, J.; Vasiljević, D. In Vitro Dissolution Study of Acetylsalicylic Acid and Clopidogrel Bisulfate Solid Dispersions: Validation of the RP-HPLC Method for Simultaneous Analysis. *Appl. Sci.* **2020**, *10* (14), 1–10. <https://doi.org/10.3390/app10144792>.
- (38) Attimarad, M.; Alkadham, A.; Almosawi, M.; Venugopala, K. Development of Rapid and Validated RP-HPLC Method for Concurrent Quantification of Rosuvastatin and Aspirin Form Solid Dosage Form. *Indian J. Pharm. Educ. Res.* **2018**, *52* (1), 151–158. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.1.17>.
- (39) Nassar, M.; Attia, K.; Mohamed, A.; Shahin, M. HPLC Method for the Simultaneous Estimation of Aspirin and Omeprazole in Their New Combination. *Anal. Chem. Lett.* **2017**, *7* (3), 438–444. <https://doi.org/10.1080/22297928.2017.1326841>.
- (40) Saeed, A.; Hamzah, M.; Ahmed, N. Quantitative Assay of Aspirin and (Salicylic Acid and Heavy Metals as Impurities) in Iraqi's Market Aspirin Tablets Using Different Analytical Methods. *Int. J. Appl. Pharm.* **2018**, *10* (5), 167–172. <https://doi.org/10.22159/ijap.2018v10i5.26820>.
- (41) De Aguiar, J. L.; Leandro, K. C.; Abrantes, S. D. M.; Albert, A. L. Development of a New Analytical Method for Determination of Acetylsalicylic and Salicylic Acids in Tablets by Reversed Phase Liquid

Chromatography. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 2009, 45 (4), 723–727.
<https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400016>.

- (42) Lonca, N.; Maillard, F.; Leguelinel, G.; Sharkawi, T.; Soulairol, I. Validation of an HPLC Assay Method for Routine QC Testing and Stability Study of Compounded Low-Dose Capsules of Acetylsalicylic Acid. *Pharm. Technol. Hosp. Pharm.* 2018, 3 (4), 199–206.
<https://doi.org/10.1515/pthp-2018-0022>.

8. ANEXO

Anexo N° 1: Validación del método de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación y cuantificación del ácido acetilsalicílico en combinación de varios fármacos.

Fármacos	Parámetros de validación	Fase móvil y estacionaria	Tiempo de retención	Autores
Pravastatina y Ácido acetilsalicílico	Linealidad: R2=0.9999 (AAS) R2=0.9998 (Pravastatina) LOD: (AAS) 0.204µg/mL (pravastatina) 0.077µg/mL LOC: (AAS) 0.680 µg /ml (Pravastatina)0.256 µg / mL Precisión: 0,385% (AAS) 0,347% (Pravastatina)	Agua , acetonitrilo y ácido acético (40:59:01 v/v/v) Phenomex C18 (200 mm × 4.6 mm, 5 µm)	3,6 y 4,6 min	(Athota, Jagarlapudi, Singampall, 2017)
Paracetamol, Ácido acetilsalicílico y Papaverina	Linealidad: R2=0.9995 (Paracetamol) R2=0.9997 (AAS) R2=0.9997 (Papaverina) Precision: 0,7% (Paracetamol) 0,9% (AAS) 2,1% (Papaverina)	Dihidrogenofosfato de potasio (25 mM, pH 3,43): ACN Zorbax SB-C18 (150 mm x 4.6 mm; 3.5µm)	2,4 y 5,8 min	(Kalma'r et al., 2014)
Ácido acetilsalicílico y Bisulfato de clopidogrel	Linealidad: R2=0.999 (AAS) LOD: (AAS) 0,0004 µg / mL (Clopidogrel) 0,0012µg / mL LOC: (AAS) 0,0012 µg /ml (Clopidogrel) 0.0007µg / mL Precisión: 0,0550 (AAS) 0,0400 (Clopidogrel)	Tampón acetonitrilo -metanol-fosfato pH 3.0 (500: 70: 430 v / v / v) Columna C-18 (150 mm x 4.6 mm ; 5µm)	2,58 y 9,73 min	(Omerdic et al., 2020)

Fuente:³⁵⁻³⁷