



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"

ESTUDIO COMPARATIVO DE METODOS
CROMATOGRAFICOS Y ESPECTROFOTO-
METRICOS PARA DETERMINAR ASPIRINA
Y ACIDO SALICILICO LIBRE EN TABLETAS

T E S I S

Que para Obtener el Título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

P r e s e n t a :

GERARDO GONZALEZ CEDILLO

Director de Tesis: Q. F. B. Alicia García Castelazo



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 está 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.

C O N T E N I D O

RESUMEN	1
INTRODUCCION Y OBJETIVO	2
CAPITULO I CROMATOGRAFIA	5
1.1 Cromatografía de líquidos clásica.	5
1.2 Cromatografía de líquidos de alta presión.	6
1.3 Conceptos teóricos de cromatografía	7
CAPITULO II ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION	11
CAPITULO III PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1 Determinación cuantitativa de aspirina por espectrofotometría al ultravioleta.	16
3.2 Determinación cuantitativa de ácido salicílico por cromatografía en columna.	17
3.3 Determinación cuantitativa de aspirina y ácido salicílico por cromatografía de líquidos de alta presión.	19
3.4 Reactivos y aparatos empleados.	22
CAPITULO IV RESULTADOS	23
Antecedentes de los productos analizados.	24
Resultados de la determinación de aspirina en tabletas simples.	25
Resultados de la determinación de ácido salicílico en tabletas simples.	26
Resultados de la determinación de aspirina en tabletas con buffer.	27

Resultados de la determinación de ácido salicílico en tabletas con buffer.	28
Resultados de la determinación de aspirina en tabletas recubiertas.	29
Resultados de la determinación de ácido salicílico en tabletas recubiertas.	30
Espectros de absorción de disoluciones de aspirina.	31
Espectros de absorción de disoluciones de ácido salicílico.	32
Cromatograma de disolución de referencia de aspirina.	33
Cromatograma de disolución de referencia de ácido salicílico.	34
Cromatograma de disolución de muestra de tabletas simples.	35
Cromatograma de disolución de muestra de tabletas con buffer.	36
Cromatograma de disolución de muestra de tabletas recubiertas.	37
CAPITULO V ANALISIS DE RESULTADOS	38
Comparación estadística de los métodos para la determinación de aspirina en tabletas simples.	40
Comparación estadística de los métodos para la determinación de ácido salicílico en tabletas simples.	41
Comparación estadística de los métodos para la determinación de aspirina en tabletas con buffer.	42

Comparación estadística de los métodos para la determinación de ácido salicílico en tabletas con buffer.	43
Comparación estadística de los métodos para la determinación de aspirina en tabletas recubiertas.	44
Comparación estadística de los métodos para la determinación de ácido salicílico en tabletas recubiertas.	45
CONCLUSIONES	46
BIBLIOGRAFIA	48

RESUMEN.

En este trabajo se presenta el estudio comparativo de métodos para determinar aspirina y ácido salicílico libre en tabletas simples, con -buffer y recubiertas.

Los métodos fueron un método espectrofotométrico para determinar aspirina y que consiste en la disolución de la muestra en solución de hidróxido de sodio en agua y lectura de la absorbancia de la disolución resultante a 295 nm. Un método de cromatografía en columna para valorar el ácido salicílico en las tabletas y que es una modificación del método de Weber y Levine que reporta la Farmacopea de los Estados Unidos de América de 1980. Un método de cromatografía de líquidos de alta presión para determinar aspirina y ácido salicílico en forma simultánea y que emplea una columna de fase inversa, acoplada a un detector ultravioleta en el cual la absorción de la aspirina y del ácido salicílico es medida a 313 nm.

Se efectuarán varias determinaciones con cada método y con los resultados obtenidos se determinarán parámetros estadísticos para efectuar la comparación estadística por medio de las pruebas t de Student y F de Fisher, encontrándose que no existe diferencia significativa entre los métodos.

INTRODUCCION Y OBJETIVO

La aspirina ó ácido acetilsalicílico es sintetizada en 1853 e introducida como medicamento en Alemania en 1899 y en los Estados Unidos de América en 1900, generalizándose desde entonces su uso por todo el mundo, siendo uno de los fármacos de mayor consumo mundial.

Las principales propiedades terapéuticas de la aspirina, son su acción antipirética, analgésica y anti-inflamatoria. Las formas farmacéuticas en que es presentado este fármaco son: supositorias, cápsulas y tabletas. En esta última presentación existen tres modalidades, que son: tabletas simples, con buffer y recubiertas; esta forma farmacéutica de aspirina es la de mayor consumo en México de ahí que sea uno de los medicamentos en los cuales se ejerce una vigilancia sanitaria que garantiza la calidad de los mismos, siendo esta tarea encomendada al Laboratorio Nacional de Referencia de la Secretaría de Salud.

El análisis de aspirina no es sencillo, debido a la presencia del ácido salicílico, que es precursor y producto de degradación de ésta, — su determinación es parte del ensayo de aspirina tanto en materia prima como en producto terminado y es de suma importancia por los efectos nocivos que causa el ácido salicílico en el estómago.

Los métodos que emplea el Laboratorio Nacional de Referencia para el análisis de tabletas de aspirina son: para ácido salicílico un método de cromatografía en columna que es el que reporta la Farmacopea de los Estados Unidos de América de 1980 (U.S.P. XX) y para la determinación de aspirina emplea un método espectrofotométrico.

El método de determinación de ácido salicílico en tabletas esta basado en el método de Heber y Levine, en el cual se forma un complejo de cloruro férrico-urea-ácido salicílico, sobre una columna de tierra de diatomeas (celite) con una subsecuente elución y medida espectrofotométrica del ácido salicílico a 306 nanómetros (11)(13).

En los últimos años han sido reportados diversos métodos para determinar aspirina y ácido salicílico en diversas formas farmacéuticas, de estos métodos relativamente pocos son los que permiten la determinación simultánea de la aspirina y del ácido salicílico.

Para determinar ácido salicílico se han empleado métodos de cromatografía de partición combinados con métodos espectrofotométricos, así como métodos directos de espectrofotometría y fluorometría.

La determinación simultánea de aspirina y ácido salicílico ha sido realizada por espectrofotometría ultravioleta, pero este método y métodos basados sobre espectrofotometría visible y titulaciones ne acuosas carecen de sensibilidad para los bajos niveles de ácido salicílico presente en algunas preparaciones farmacéuticas (3).

En 1979 un método semiautomatizado de espectrofotometría al ultravioleta para la determinación de aspirina y un método semiautomatizado colorimétrico para la determinación de ácido salicílico son reportados. El primero consiste en la disolución de la muestra en buffer alcohólico y extracción con cloroformo, la absorción de la solución cloroformica es medida a 280 nm. En el segundo método la muestra también es disuelta en el buffer alcohólico y es añadida solución de nitrato férrico y la absorbancia del complejo color púrpura es leída a 532 nm (7).

En 1979 también es reportado un método de cromatografía de líquidos de alta presión por Ross B. Kirchoeffer para la determinación simultánea de aspirina y ácido salicílico libre, el cual está basado en el método de Ali publicado en 1976 y en las observaciones de las características de fluorescencia del ácido salicílico a un pH de 4.5, hechas por Ebano y Niele en 1970.

En este método se emplea una columna de fase reversa acoplada a detectores de ultravioleta y de fluorescencia con sus respectivos registradores. La absorción de la aspirina es determinada a 254 nm y la fluore-

señala del ácido salicílico fue medida a 425 nm.

Este método fue desarrollado para cuantificar aspirina y ácido salicílico libre en materia prima, tabletas simples, con buffer y recubiertas para llevar a cabo una inspección para determinar la calidad de estos productos en el mercado estadounidense (7) y (8).

En 1984 en el Laboratorio Nacional de Referencia es desarrollado un método de cromatografía de líquidos de alta presión para determinar aspirina y ácido salicílico en forma simultánea basado en el método de Kirchoeffer.

En dicho método a diferencia del de Kirchoeffer no se emplea un detector de fluorescencia, ya que la absorbancia de la aspirina y del ácido salicílico es determinada a 313 nm en un detector de ultravioleta al cual es acoplado un solo registrador.

El presente trabajo tiene como objetivo efectuar la comparación del método de cromatografía de líquidos de alta presión desarrollado en el Laboratorio Nacional de Referencia para determinar simultáneamente la aspirina y el ácido salicílico libre en tabletas simples, con buffer y recubiertas, con respecto a los métodos empleados hasta ahora en dicho laboratorio y que son: un método espectrofotométrico para cuantificar aspirina y un método de cromatografía en columna para determinar ácido salicílico. La finalidad de este estudio comparativo es determinar si existe equivalencia estadística entre los métodos para demostrar que éstos tienen la misma confiabilidad y por lo tanto el método de cromatografía de líquidos de alta presión pueda sustituir a los métodos espectrofotométrico y de cromatografía en columna.

CAPITULO I

CROMATOGRAFIA

La cromatografía es una técnica que permite separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos que pueden ser desde simples iones inorgánicos hasta complejas macromoléculas. La muestra es distribuida entre dos fases, una estacionaria y otra móvil de tal forma que cada uno de los componentes de la mezcla es selectivamente retenido por la fase estacionaria (1).

La separación se lleva a efecto en una columna tubular rellena de un sólido poroso finamente dividido, el cual puede actuar como fase estacionaria propiamente dicha ó como soporte de una fase estacionaria líquida. También se puede efectuar utilizando como fase estacionaria papel de filtro o un sólido finamente dividido colocado en forma de capa fina sobre una placa de vidrio. Estos tres tipos de cromatografía se basan en los mismos principios fundamentales, y se conocen respectivamente como cromatografía en columna, de papel y de capa fina.

En la cromatografía en columna, la fase móvil puede ser un líquido o un gas, y se denominan respectivamente como cromatografía de líquidos y cromatografía de gases.

1.1 CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS CLASICA

Durante muchos años se ha practicado la cromatografía de líquidos en una forma que llamaremos clásica y que consiste básicamente en lo siguiente. En una columna de vidrio, cuyo diámetro varía entre 2 y 10 cm rellena de algún material (como sílice, alúmina, azúcar, etc.) cuyas partículas son por lo general de un tamaño cercano a las 200 micras, se suspende la muestra en un disolvente y se introduce en la columna y -

posteriormente se agrega el disolvente, con lo cual se eluye la muestra a través de la columna. La cantidad de la muestra varía entre 0.1 y 1.0 granos o más. El disolvente o fase móvil fluye a través de la columna - por efecto de la gravedad, produciéndose apenas una débil presión ejercida por el volumen de la fase móvil que se agrega a la columna. El disolvente se recolecta en la base de la columna en fracciones de determinado volumen. Uno de los inconvenientes de esta técnica es el prolongado tiempo de análisis requerido; otra desventaja es que el material de relleno se utiliza por lo general una sola vez debido a que parte de la muestra usualmente se adsorbe en forma irreversible(12).

El problema principal de esta cromatografía de líquidos clásica es la identificación y cuantificación de los componentes que eluyen de la columna disueltos en la fase móvil. En general se usa alguna técnica -- auxiliar, como por ejemplo: espectrofotometría, análisis químico volumétrico, etc.

1.2 CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION.

En la cromatografía de líquidos de alta presión se emplea un instrumental muy diferente al usado en cromatografía de líquidos clásica, lo cual hace que dicho método sea uno de los que ofrece más ventajas en la actualidad, como son; deterioro lento de las columnas a pesar de su uso continuo, buena resolución y reproducibilidad, cortos tiempos de análisis y gran sensibilidad.

En este método se emplean columnas de diámetro muy reducido, rellenas de materiales especiales cuyas partículas tienen un tamaño de 30 a 40 micras. Este tipo de columna es muy eficaz, pero ofrece una gran resistencia al flujo de la fase móvil, por esta razón es necesario emplear sistemas de bombeo de alta presión (hasta 400 atm.) que hagan fluir la fase móvil a una velocidad razonable a través de la columna. La cantidad de fase estacionaria dentro de la columna es pequeña, por lo que se requiere que la muestra también sea pequeña, entre 1 y 10 microgramos.

Un detector colocado a la salida de la columna, proporciona un registro continuo de la composición del líquido que sale, lo que permite obtener un cromatograma que se utiliza para identificar y cuantificar los componentes de la muestra.

En cromatografía de líquidos de alta presión existen dos tipos de sistemas de elución; sistema isocrático y sistema de gradiente. En el primero se requiere que se mezcle el disolvente en la proporción adecuada manteniéndose constante la composición de la fase móvil a lo largo del análisis. En el segundo sistema la composición de la fase móvil varía con respecto al tiempo de análisis. En las figuras 1 y 2 se muestran los diagramas respectivos de los sistemas isocrático y de gradiente (10).

1.3 CONCEPTOS TEÓRICOS DE CROMATOGRAFIA.

En cromatografía la separación de los componentes de una mezcla se debe a la diferencia en la distribución de éstos entre la fase móvil y la fase estacionaria estableciéndose un equilibrio el cual es representado por el coeficiente de distribución.

$$K = \frac{C_s}{C_m} \dots\dots\dots (1)$$

Donde:

K = coeficiente de distribución.

C_s = concentración del compuesto en la fase estacionaria.

C_m = concentración del compuesto en la fase móvil.

Existen dos medidas que caracterizan al compuesto que puede ser separado por un sistema cromatográfico; el volumen de retención (V_r) y el tiempo de retención (T_r). El volumen de la fase móvil requerido para eluir un compuesto de la columna cromatográfica se llama volumen de retención y al tiempo transcurrido desde la introducción de la muestra en la columna hasta el momento que eluye el compuesto se denomina tiempo de retención. La determinación de estas dos medidas se hace desde el momento en que se

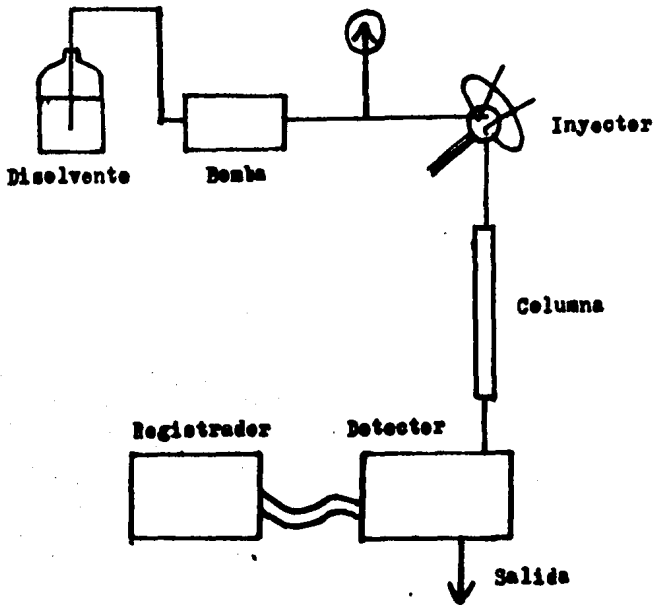


Fig. I Diagrama del sistema isocrático.

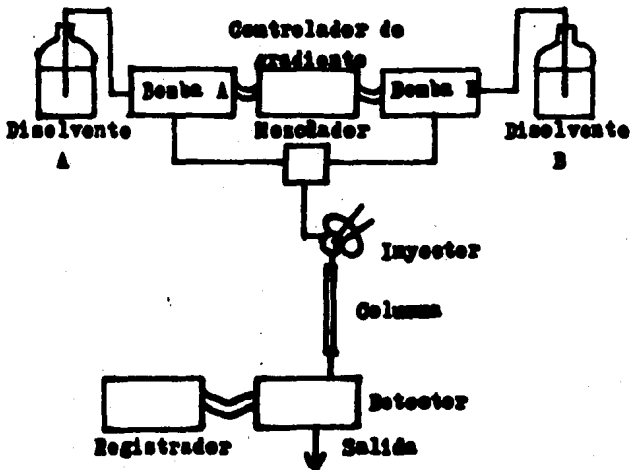


Fig. 2 Diagrama del sistema de gradiente.

introduce la muestra en la columna hasta el instante en que aparece el máximo del pico en la gráfica trazada por el registrador. Cuando las condiciones de trabajo son constantes; tipo de columna, temperatura, fase móvil, presión, etc., el volumen y el tiempo de retención son prácticamente constantes.

La cromatografía tiene como fin primordial la separación adecuada de los componentes de una mezcla y para determinar si dicha separación es buena se tiene un parámetro denominado resolución (R_s).

La resolución de dos picos adyacentes se define como la distancia entre los centros de éstos dividida entre el promedio de la amplitud de las bases de dichos picos.

$$R_s = \frac{T_{r_1} - T_{r_2}}{1/2 (W_2 + W_1)} \quad \dots\dots \quad (II)$$

Donde:

R_s = resolución

T_{r_1} y T_{r_2} = tiempos de retención de las bandas 1 y 2.

W_1 y W_2 = amplitud de la base de las bandas 1 y 2.

La resolución esta determinada por tres parámetros que estan incluidos en la siguiente ecuación:

$$R_s = \left[\frac{1}{4} N \right] \left[\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right] \left[\frac{K'}{K' + 1} \right] \quad \dots\dots \quad (III)$$

En donde el primer término describe la eficiencia de la columna; el segundo término la selectividad y el ultimo término es el factor de capacidad.

La eficiencia de la columna está en función del diámetro, tamaño de partícula, velocidad de flujo, tamaño de la muestra y temperatura. La eficiencia de una columna se expresa cuantitativamente por el número de platos teóricos (N), el cual se define con la siguiente ecuación:

$$N = 16 (T_r/W)^2 \quad \dots\dots \quad (IV)$$

Donde:

T_r = tiempo de retención.

N = amplitud de la base del pico.

Esta relación solo se puede aplicar a aquellos picos que son simétricos pues para llegar a ella se hizo la suposición de que los picos siguen una distribución binomial que en el límite cuando N tiende a infinito se aproxima a una distribución normal.

El concepto más práctico para determinar la eficiencia, es la altura equivalente a un plato teórico (AEPT) y se define como el largo necesario de la columna para lograr el equilibrio entre la fase móvil y la fase estacionaria.

El número de platos teóricos (N) y la altura equivalente a un plato teórico (AEPT) se relacionan de la siguiente manera.

$$\text{AEPT} = L/N \quad \dots\dots (V)$$

L = largo de la columna en cm.

La capacidad (K') resulta de las características del disolvente empleado y esta definido por la siguiente relación.

$$K' = \frac{V_r - V_n}{V_n} \quad \dots\dots (VI)$$

Donde:

K' = Factor de capacidad.

V_r = volumen de retención.

V_n = volumen muerto en la columna.

La selectividad de una columna está dada por la separación relativa de los picos de los compuestos por separar obtenidos en el cromatograma.

La selectividad está determinada por la siguiente ecuación:

$$\text{Selectividad} = \frac{\alpha - 1}{\alpha} \quad \dots\dots (VII)$$

$$\alpha = \frac{V_{r_2} - V_n}{V_{r_1} - V_n} = \frac{K'_2}{K'_1} \quad \dots\dots (VIII)$$

Donde los subíndices 1 y 2 se refieren a compuestos diferentes y con sus respectivos parámetros ya definidos en la ecuación (VI).

CAPITULO II

ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION

Todos los átomos y moléculas son capaces de absorber energía, la cual puede ser suministrada en forma de radiación electromagnética (luz); el tipo y cantidad de esta radiación absorbida por una molécula está relacionada directamente con su estructura; la cantidad de radiación absorbida también está determinada por el número de moléculas que interaccionan con la radiación. Al estudio de este tipo de interacciones entre la radiación electromagnética y los átomos o moléculas de una sustancia determinada, se le denomina espectrofotometría de absorción.

Toda la radiación electromagnética es de modo fundamental, similar con independencia de su longitud de onda, pero se han asignado distintos nombres a la radiación en diferentes márgenes de frecuencia. El intervalo completo de radiaciones se denomina espectro electromagnético y los intervalos de interés en espectrofotometría se definen con más precisión, así:

Regiones	Intervalos de longitud de onda
Ultravioleta lejano	100-200 nm
Ultravioleta cercano	200-400 nm
Visible	400-750 nm
Infrarrojo cercano	750-4000 nm
Infrarrojo	4000-25000 nm

El análisis espectrofotométrico cuantitativo se basa en la relación entre la cantidad de luz absorbida y la cantidad de sustancia absorbente. Esta relación que es comprobable de manera teórica, se observa de manera experimental en la mayoría de las situaciones analíticas prácticas.

Consideremos una sustancia en una disolución capaz de absorber luz -

de longitud de onda seleccionada en donde el disolvente no absorbe luz a esta longitud de onda. Se observa que si se hace pasar luz de onda fija - a través de una capa de disolución de espesor dL el descenso en la intensidad de la luz - dI , como consecuencia de su paso a través de la disolución es directamente proporcional a la intensidad I de la radiación a la concentración C de las especies absorbentes y al espesor dL de la capa de la disolución.

$$-dI = k I C dL \quad \dots\dots\dots (IX)$$

Se reordena e integra esta ecuación entre los límites I_0 (la intensidad de la luz incidente) e I (la intensidad de la luz después de pasar a través del espesor L de la disolución).

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI}{I} = k C \int_0^L dL \quad \dots\dots\dots (X)$$

$$-\ln \frac{I}{I_0} = k L C \quad \dots\dots\dots (XI)$$

$$I = I_0 e^{-k L C} \quad \dots\dots\dots (XII)$$

Pasando a logaritmo decimal:

$$I = I_0 10^{-E L C} \quad \dots\dots\dots (XIII)$$

Donde: $E = k/2.303$.

La ley de Beer se expresa frecuentemente por la ecuación:

$$A = E L C \quad \dots\dots\dots (XIV)$$

que establece que la absorbancia A de una disolución es directamente proporcional a la concentración C del soluto absorbente. El término E es una constante de proporcionalidad que es independiente de la concentración, pase de la luz o intensidad de la radiación incidente. La absorptividad E como se le conoce a este término depende de la temperatura, el disolvente la estructura molecular y la longitud de onda de la radiación. Las unida-

des de E se determinan a partir de las de L y C. Cuando L esta en centímetros y C en gramos por litro, la absorptividad se expresa en litros gramo⁻¹ cm⁻¹. Si C es una concentración molar la absorptividad recibe el nombre de absorptividad molar y se representa por ϵ y sus unidades son litros mol⁻¹ cm⁻¹.

Un espectro de absorción es determinado midiendo la absorbancia de una solución como función de la longitud de onda y en estos se encuentran valores máximos y mínimos de absorbancia y a las longitudes de onda correspondientes se les denomina λ_{\max} y λ_{\min} . respectivamente.

Si de una serie de diluciones de la misma sustancia se mide absorbancia a la misma longitud de onda, temperatura y condiciones de disolución y se representa la absorbancia de cada disolución en función de la concentración de cada dilución, se obtendrá por lo general una línea recta que pasa por el origen de acuerdo con la ecuación de la ley de Beer. A esta gráfica se le denomina trazado de la ley de Beer en el margen de concentraciones investigado. La pendiente de la línea es igual a $E \times L$ y puesto que se conoce L (L es la longitud del paso de luz interna de la celda que contiene la muestra) se puede calcular la absorptividad E.

La longitud de onda seleccionada para la determinación de la absorptividad es usualmente λ_{\max} . por dos razones; 1) la sensibilidad máxima se alcanza trabajando en el máximo de la banda, puesto que una concentración dada produce la señal más fuerte a esta longitud de onda; 2) la incertidumbre de la absorbancia para pequeños cambios de la longitud de onda es mínima en el máximo de la banda (a menos que la banda sea muy pronunciada) y por lo tanto los errores debidos a las pequeñas variaciones en la fijación de la longitud de onda máxima por parte del instrumento empleado.

Determinada la absorptividad de una sustancia a una longitud de onda seleccionada, el análisis de muestras de concentración desconocida de esta misma sustancia es relativamente sencillo. Se prepara una disolución de la sustancia en el mismo disolvente empleado para las muestras conocidas, la

concentración estimada para esta disolución deberá estar dentro del intervalo que limitan las concentraciones extremas usadas en el estudio de la ley de Beer. Se mide la absorbancia de la muestra desconocida a la longitud de onda analítica y se calcula la concentración desconocida a partir de la ley de Beer, o también se lee directamente la concentración desconocida a partir de la gráfica de la ley de Beer. Para que estas sencillas técnicas analíticas sean aplicables es necesario que no este presente ninguna sustancia interferente que absorba a la longitud de onda analítica.

En una versión simplificada de estos métodos se emplea una medida concomitante única de la disolución de la muestra y una solución preparada en igualdad de circunstancias con un patrón de referencia (en este método previamente se verifica la ley de Beer). Con el patrón y la muestra se efectúa exactamente el mismo procedimiento, y se escribe la ley de Beer para cada disolución:

$$A_r = E L C_r \quad \dots\dots\dots (XV)$$

$$A_m = E L C_m \quad \dots\dots\dots (XVI)$$

Donde el subíndice r se refiere a la sustancia de referencia y el m a la muestra. Resolviendo estas ecuaciones para C_m desconocida se obtiene:

$$C_m = C_r \frac{A_m}{A_r} \quad \dots\dots\dots (XVII)$$

Los procedimientos de ensayos espectrofotométricos de la Farmacopea de los Estados Unidos de América (U.S.P.) y del Formulario Nacional (N.F.) — suelen exponer explícitamente este método de análisis, y la ecuación final puede incluir un factor numérico de estimación para la dilución de la muestra. Es recomendable para obtener una buena reproducibilidad en las medidas de la absorbancia, realizar todas las mediciones en el mismo instrumento y en periodos de tiempo no muy prolongados.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo experimental consistió en la determinación de aspirina y ácido salicílico libre en tabletas simples, con buffer y recubiertas. Se emplearon muestras de marca comercial diferente y de un mismo lote.

La determinación se efectuó por medio de los métodos que emplea el Laboratorio Nacional de Referencia y por el método de cromatografía de líquidos de alta presión. Los métodos del Laboratorio Nacional de Referencia consisten en una determinación espectrofotométrica al ultravioleta para aspirina y una determinación por cromatografía en columna para el ácido salicílico libre.

El método de cromatografía de líquidos de alta presión fue en fase inversa empleando una columna microbondapak C_{18} y como fase móvil una mezcla de metanol y ácido acético al 3% en agua en una proporción de 40:60.

La cuantificación se efectuó relacionando las alturas obtenidas de los picos de aspirina y ácido salicílico con respecto al pico de cafeína, usada como referencia interna, lo que se hizo tanto para las disoluciones problema como para la disolución de referencia.

3.1 DETERMINACION CUANTITATIVA DE ASPIRINA
POR ESPECTROFOTOMETRIA AL ULTRAVIOLETA.

Procedimiento.

Preparación de la disolución de referencia de aspirina.- Se pesó con exactitud 10 mg del patrón de referencia de aspirina y se transfirieron a un matras volumétrico de 25 ml, se adicionaron 5 ml de agua y 4 ml de hidróxido de sodio 1.0 N, se agitó hasta disolución y se llevó al aforo con agua destilada. Se tomó una alícuota de 3 ml y se llevaron a 50 ml con hidróxido de sodio 0.1 N. La concentración final fue de 24 microgramos/ml.

Preparación de la disolución de las muestras.- Se determinó el peso promedio de 20 tabletas en cada muestra y se pulverizaron. Se pesó exactamente el equivalente a 60 mg de aspirina y se transfirieron a un matras aforado de 100 ml, se adicionaron 25 ml de agua y 15 ml de hidróxido de sodio 1.0 N, y el matras fue agitado hasta disolver la muestra y se llevó al aforo con agua destilada. Se filtró esta disolución con papel filtro Whatman No. 42 y los primeros 10 ml fueron descartados. Se tomó una alícuota de 4 ml del filtrado y se llevaron a 100 ml con hidróxido de sodio 0.1 N.

Determinación.- Se efectuó la lectura de las absorbancias de las disoluciones de las muestras y del patrón de referencia a una longitud de onda de 295 mμ empleando como blanco hidróxido de sodio 0.1 N.

Se calculó la cantidad de aspirina en miligramos contenidos en las tabletas por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{mg de aspirina/tableta} = \frac{A_p}{A_s} (C_s)(V_s) \frac{V_p}{P_s} \dots\dots (XVIII)$$

Donde:

A_p = absorbancia de la disolución problema.

A_s = absorbancia de la disolución de referencia.

C_s = concentración en mg/ml de aspirina de la disolución de referencia (0.0024).

P_d = factor de dilución de la disolución problema (2500).

P_p = peso promedio de las tabletas en mg.

P_m = peso de la muestra en mg.

3.2 DETERMINACION CUANTITATIVA DE ACIDO SALICILICO POR CROMATOGRAFIA EN COLUMNA.

Procedimiento.

Preparación del reactivo de cloruro férrico-urea. - A una mescla de 8 ml de disolución de cloruro férrico 6,10 y 42 ml de ácido clorhídrico 0.05 N se agregaron 60 gr de urea y se agitó hasta disolver la urea.

Preparación de la columna cromatográfica. - Se colocó una pequeña porción de lana de vidrio en el fondo de una columna de vidrio de 20 cm de largo por 2.5 cm de diámetro interno y se empacó uniformemente con una mescla de 1 gr de tierra sílicea cromatográfica y 0.5 ml de ácido fosfórico 5 N y directamente sobre esta capa se colocó una mescla de 3 gr de tierra sílicea cromatográfica y 2 ml del reactivo de cloruro férrico-urea y se empacó uniformemente.

Preparación de la disolución de referencia. - Se pesó con exactitud 30 mg del patrón de referencia de ácido salicílico y se transfirieron a un matraz aferado de 100 ml y se disolvieron y llevaron a volumen con cloroformo, se tomó una alícuota de 5 ml y se llevaron a 50 ml con cloroformo para tener una concentración de 0.03 mg/ml. De esta disolución se tomó una alícuota de 10 ml y se transfirieron a un matraz aferado de 50 ml que contenía 10 ml de metanol, 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado y 10 ml de la disolución de ácido acético glacial en éter 1:10, se llevó a volumen con cloroformo y se mezcló obteniéndose una disolución con una concentración de 6 microgramos/ml.

Preparación de las muestras. - Se determinó el peso promedio de 20 tabletas en cada muestra y se pulverizaron. Para la muestra de tabletas simples se pesó el equivalente a 400 mg de aspirina y se transfirieron a un matraz erlenmeyer de 100 ml y se agregaron 40 ml de cloroformo y se agitó el matraz por tres minutos. Para la muestra de tabletas con buffer se --

pesó el equivalente a 300 mg de aspirina y se colocaron en un matraz erlenmeyer de 100 ml y se agregaron 30 ml de cloroforme y se agitó el matraz por tres minutos. En la muestra de tabletas recubiertas se pesó el equivalente a 50 mg de aspirina y se siguió el mismo procedimiento que en los casos anteriores pero agregando solamente 10 ml de cloroforme. Cada una de las muestras disueltas en el cloroforme se transfirieron a su respectiva columna cromatográfica y se pasaron 100 ml de cloroforme en varias porciones por cada una de las columnas, deshechando los eluates. El ácido salicílico adsorbido sobre la columna se eluyó pasando a través de las columnas 2 porciones de 10 ml de una mezcla de ácido acético glacial en éter 1:10 y posteriormente 30 ml de cloroforme en varias porciones. Los elutes se recibieron en matraces aferados de 100 ml los cuales contenían 20 ml de metanol, y 4 gotas de ácido clorhídrico concentrado llevándose a volumen con cloroforme.

Preparación del blanco.— En un matraz volumétrico de 50 ml se mezclaron 10 ml de metanol, 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado y 10 ml de disolución 1:10 de ácido acético glacial en éter y se llevó a volumen con cloroforme.

Determinación.— Se determinaron las absorbancias de la disolución de referencia y de las disoluciones problema a una longitud de onda de 306 mμ ajustando el aparato previamente con el blanco.

Se calculó la cantidad de ácido salicílico en porcentaje contenido por tableta de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de ácido salicílico/tableta} = \frac{A_p}{A_r} (C_r)(F_d) \frac{F_p}{F_r} \times \frac{100}{B} \dots (XIX)$$

Donde:

A_p = absorbancia de la disolución problema.

A_r = absorbancia de la disolución de referencia.

C_r = concentración de ácido salicílico en la disolución de referencia en mg/ml (0.006)

F_d = factor de dilución de la disolución problema (100).

Pp = peso promedio de las tabletas en mg.
Pn = peso de la muestra en mg.
B = contenido de aspirina por tableta en mg.

3.3 DETERMINACION CUANTITATIVA DE ASPIRINA Y ACIDO SALICILICO POR CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION.

Procedimiento.

Disolución de referencia interna de cafeína.- Se pesaron exactamente 50 mg de cafeína y se colocaron en un matras aferado de 100 ml, se disolvieron y aferaron con ácido acético al 3 %.

Disolución de referencia externa de aspirina.- Se pesaron exactamente 50 mg de aspirina y se transfirieron a un matras aferado de 25 ml y se agregaron 1 ml de metanol y se agitó por un minuto, en seguida se adicionó 1 ml de ácido fórmico y se agitó por un minuto, entonces se agregó 5 ml de la disolución de referencia interna de cafeína y se lleve a volumen con ácido acético al 3%. Se tomaron 10 ml con una jeringa hipodérmica y se pasaron a través de un Swinax provisto de un filtro de 0.45 micras, descartando los primeros 5 ml, se tomaron 20 microlitros con una microjeringa del filtrado y se inyectaron inmediatamente.

Disolución de referencia externa de ácido salicílico.- Se pesó exactamente 10 mg de ácido salicílico y se pasaron a un matras aferado de 100 ml y se añadió 1 ml de metanol y se agitó hasta disolver y se aferó con ácido acético al 3%. Se tomaron 6 ml de esta disolución y se colocaron en un matras aferado de 100 ml, se añadieron 20 ml de la disolución de referencia interna de cafeína y se llevaron a volumen con ácido acético al 3%. Se tomaron 10 ml de esta disolución con una jeringa hipodérmica y se filtraron siguiendo el mismo procedimiento que para la aspirina. Se tomaron 20 microlitros del filtrado y se inyectaron inmediatamente.

Disolución de las muestras.- Se determinó el peso promedio de 20 tabletas y se pulverizaron. Se pesó exactamente el equivalente a 100 mg de aspirina y se transfirieron a un matras aferado de 50 ml, se agregó un mililitro de

metanol y se agitó por un minuto, se adicionaron despues 1 ml de ácido fórgico y se agitó la mezcla por un minuto, entonces se agregaron 10 ml de la disolución de referencia interna de cafeína y se llevó a volumen con ácido acético al 3%. Se filtró esta disolución con papel filtro Whatman No. 42 - descartando los primeros 10 ml. Se tomaron 10 ml de este primer filtrado - y se siguió el mismo procedimiento de filtración que para las disoluciones de referencia de aspirina y de ácido salicílico. Se tomaron 20 microlitros del filtrado y se inyectaron inmediatamente.

Condiciones cromatográficas.

Temperatura	18° C ± 1° C
Fase móvil	Metanol ; Acido acético al 3% (40) (60)
Velocidad de flujo	1.4 ml/min.
Detector U.V.	313
Presión	2400 lb/pulg. ²
Sensibilidad	0.05
Velocidad del papel	0.25 cm/min.
Inyección	20 microlitros.

Determinación.- Una vez cerridos los cromatogramas de las disoluciones de referencia y de las muestras se procedió a medir con exactitud las alturas de los picos de aspirina, ácido salicílico y cafeína correspondientes a -- cada disolución y se calcularon los contenidos de aspirina y ácido salicílico en cada muestra con las siguientes ecuaciones:

Para aspirina:

$$\text{mg de aspirina/tableta} = \frac{h_p/h_{as}}{h_r/h_{as}} (C_r)(V_r) \frac{F_r}{F_p} \dots (IX)$$

Donde:

h_p = altura en cm del pico de aspirina en la disolución problema.

h_r = altura en cm del pico de aspirina en la disolución de referencia externa.

h_{as} = altura en cm del pico de cafeína en la disolución problema.

h_{c1}' = altura en cm. del pico de cafeína en la disolución de referencia externa de aspirina.

F_d = factor de dilución de la disolución problema (50).

C_a = concentración en mg/ml de la disolución de referencia de aspirina (2).

F_p = peso promedio de las tabletas en mg.

P_a = peso de la muestra en mg.

Para ácido salicílico:

$$\% \text{ de ácido salicílico/tableta} = \frac{h_p/h_{c1}}{h_s/h_{c1}'} (C_a)(F_d) \frac{F_p}{P_a} \times \frac{100}{B} \dots(\text{XII})$$

Donde:

h_p = altura en cm. del pico de ácido salicílico en la disolución problema.

h_{c1} = altura en cm. del pico de cafeína en la disolución problema.

h_s = altura en cm. del pico de ácido salicílico en la disolución de referencia externa.

h_{c1}' = altura en cm. del pico de cafeína en la disolución de referencia externa de ácido salicílico.

C_a = concentración en mg/ml de ácido salicílico en la disolución de referencia externa (0.006).

F_d = factor de dilución de la disolución problema (50).

F_p = peso promedio de las tabletas en mg.

B = contenido de aspirina por tableta.

3.4 REACTIVOS Y APARATOS EMPLEADOS

Reactivos.

Hidróxido de sodio 0.1 N, hidróxido de sodio 1.0 N, tierra sílice cromatográfica, lana de vidrio, cloroformo grado reactivo, cloroformo recién saturado con agua, éter etílico grado reactivo, éter etílico recién saturado con agua, metanol grado reactivo, metanol grado espectrofotométrico, ácido clorhídrico concentrado, ácido clorhídrico 0.05 N, ácido acético glacial, ácido acético al 3%, ácido fosfórico 5 N, ácido fórmico, urea, cloruro férrico y agua destilada.

Aparatos.

Espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 552-A, registrador Perkin-Elmer modelo 561, celdas de sílice de 1 cm de espesor, balanza analítica de pesada - mínima de 0.1 mg, cromatógrafo de líquidos de alta presión Waters equipado con detector de longitud de onda fija modelo 441 (Waters Associates), registrador Omni-Scribe (Houston Instruments), columna de acero inoxidable - de 300 mm de largo por 3.9 mm de diámetro interno microbondapak C₁₈ con tamaño de partícula de 10 micras, equipo de filtración milipore con membranas de 0.45 micras, microjeringa de 25 microlitros de capacidad para cromatógrafo de líquidos.

CAPITULO IV

RESULTADOS

ANTECEDENTES DE LOS PRODUCTOS ANALIZADOS.

Producto.	Contenido teórico de aspirina
TABLETAS SIMPLES	500 mg/tableta
TABLETAS CON BUFFER	300 mg/tableta
TABLETAS RECUBIERTAS	500 mg/tableta

DETERMINACION DE ASPIRINA EN TABLETAS SIMPLIS

TABLA 1

METODO ESPECTROFOTOMETRICO

Determinación	Absorbancia	% encontrado	ng/tableta encontrado.
R	0.498	---	
1	0.511	102.61	513.11
2	0.507	101.80	509.09
3	0.509	102.20	511.10
4	0.511	102.61	513.11
5	0.506	101.60	508.00
6	0.517	103.81	519.13
7	0.506	101.60	508.00
8	0.507	101.80	509.09
9	0.503	101.00	502.02
10	0.509	102.20	511.10

R = Disolución de referencia

TABLA 2

METODO DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION

Determinación	% encontrado	ng/tableta encontrados
1	102.14	510.70
2	101.88	509.43
3	101.17	505.88
4	100.00	500.00
5	101.16	505.81
6	101.16	505.81
7	100.00	500.00
8	102.71	513.56
9	102.00	510.00
10	101.50	507.54

DETERMINACION DE ACIDO SALICILICO EN TABLETAS SIMPLAS

TABLA 3
METODO DE CROMATOGRAFIA EN COLUMNA

Determinación	Absorbancia	% encontrado
R	0.180	—
1	0.134	0.109
2	0.134	0.109
3	0.179	0.146
4	0.090	0.073
5	0.144	0.117
6	0.179	0.146
7	0.108	0.088
8	0.179	0.146
9	0.108	0.088
10	0.157	0.128

R = Disolución de referencia

TABLA 4
METODO DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION

Determinación	% encontrado
1	0.094
2	0.103
3	0.107
4	0.135
5	0.122
6	0.122
7	0.112
8	0.179
9	0.083
10	0.116

DETERMINACION DE ASPIRINA EN TABLETAS CON BUPPER

TABLEA 5

METODO ESPECTROFOTOMETRICO

Determinación	Absorbancia	% encontrado	ng/tableta encontrados.
R	0.498	—	
1	0.505	101.40	304.21
2	0.509	102.20	306.62
3	0.507	101.80	305.42
4	0.499	100.20	300.60
5	0.503	101.00	303.01
6	0.502	100.80	302.40
7	0.507	101.80	305.42
8	0.499	100.20	300.60
9	0.499	100.20	300.60
10	0.489	98.19	294.17

R = Resolución de referencia

TABLEA 6

METODO DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION

Determinación	% encontrado	ng/tableta encontrados
1	98.82	296.47
2	100.00	300.00
3	100.39	301.17
4	101.56	304.70
5	101.88	305.66
6	102.32	306.97
7	102.71	308.13
8	100.78	302.35
9	101.56	304.70
10	100.25	300.75

DETERMINACION DE ACIDO SALICILICO EN TABLETAS CON BUFFER

TABLA 7
METODO DE CROMATOGRAFIA EN COLUMNA

Determinación	Absorbancia	% encontrado
R	0.180	—
1	0.134	0.147
2	0.134	0.147
3	0.105	0.115
4	0.134	0.147
5	0.149	0.164
6	0.094	0.103
7	0.105	0.115
8	0.116	0.127
9	0.105	0.115
10	0.149	0.164

R =Disolución de referencia.

TABLA 8

METODO DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION

Determinación	% encontrado
1	0.143
2	0.145
3	0.177
4	0.136
5	0.125
6	0.130
7	0.125
8	0.136
9	0.128
10	0.204

DETERMINACION DE ASPIRINA EN TABLETAS RECUBIERTAS

TABLA 9
METODO ESPECTROFOTOMETRICO

Determinación	Absorbancia	% encontrado	ng/tableta encontrados
R	0.498	—	
1	0.497	99.88	499.00
2	0.482	96.78	483.94
3	0.487	97.91	488.96
4	0.489	98.19	490.97
5	0.480	96.38	481.93
6	0.483	96.98	484.95
7	0.487	97.79	488.96
8	0.498	100.00	500.00
9	0.489	98.19	490.97
10	0.498	100.00	500.00

R.-Disolución de referencia.

TABLA 10

METODO DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION

Determinación	% encontrado	ng/tableta encontrados
1	98.00	490.00
2	98.86	494.30
3	98.43	492.15
4	97.14	485.70
5	99.29	496.45
6	98.86	494.30
7	98.43	492.15
8	97.14	485.14
9	100.14	500.74
10	100.74	500.74

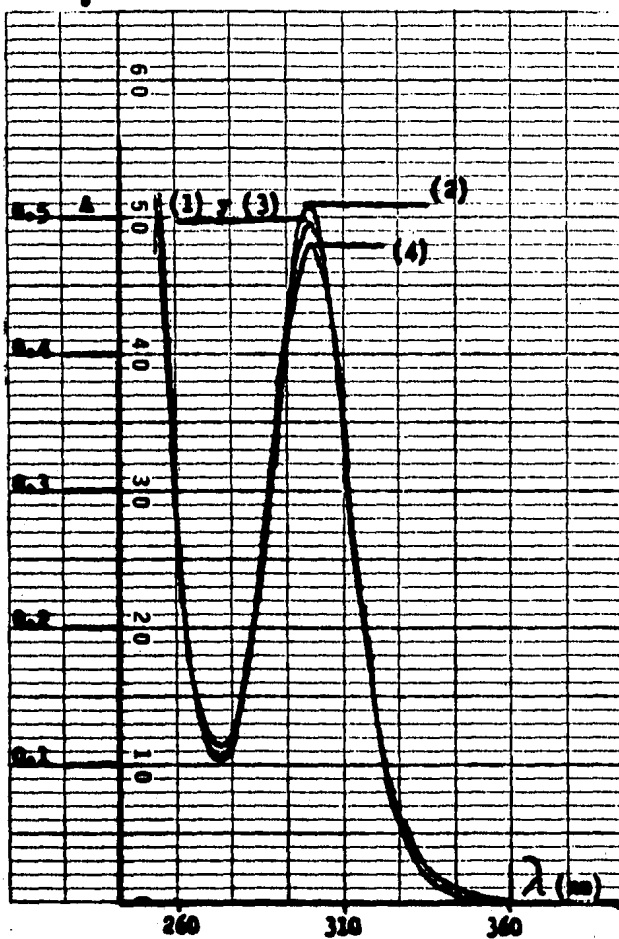
DETERMINACION DE ACIDO SALICILICO EN TABLETAS RECUBIERTAS

TABLA 11
METODO DE CROMATOGRAFIA EN COLUMNA

Determinación	Absorbancia	% encontrado
R	0.180	—
1	0.210	1.42
2	0.214	1.45
3	0.201	1.36
4	0.245	1.66
5	0.213	1.44
6	0.189	1.28
7	0.179	1.21
8	0.235	1.59
9	0.214	1.45
10	0.245	1.66
R = Disolución de referencia		

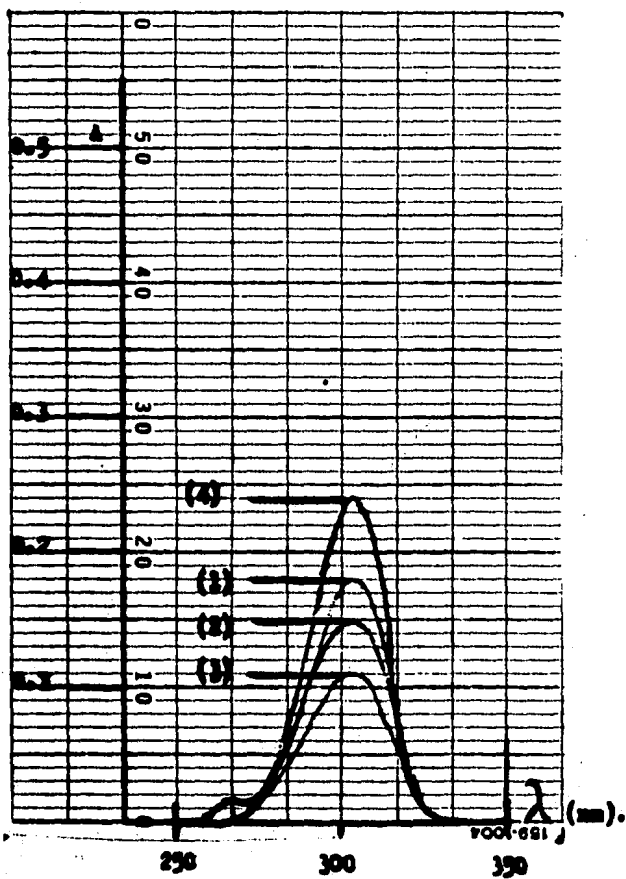
TABLA 12
METODO DE CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION

Determinación	% encontrado
1	1.65
2	1.48
3	1.36
4	1.46
5	1.42
6	1.29
7	1.25
8	1.26
9	1.45
10	1.43



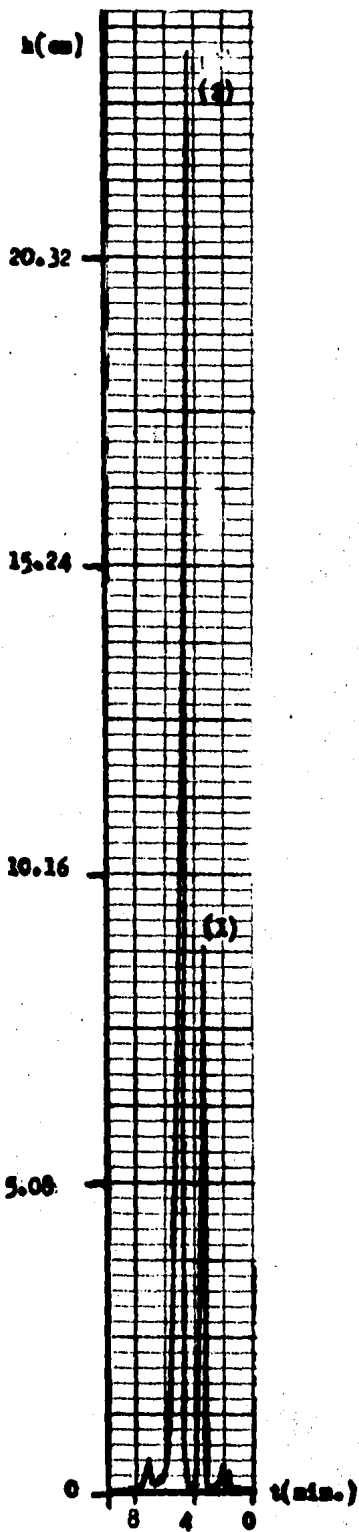
ESPECTROS DE ABSORCIÓN

- (1) Disolución de referencia de aspirina.
- (2) Disolución de muestra de tabletas simples.
- (3) Disolución de muestra de tabletas con buffer.
- (4) Disolución de muestra de tabletas recubiertas.



ESPECTROS DE ABSORCIÓN

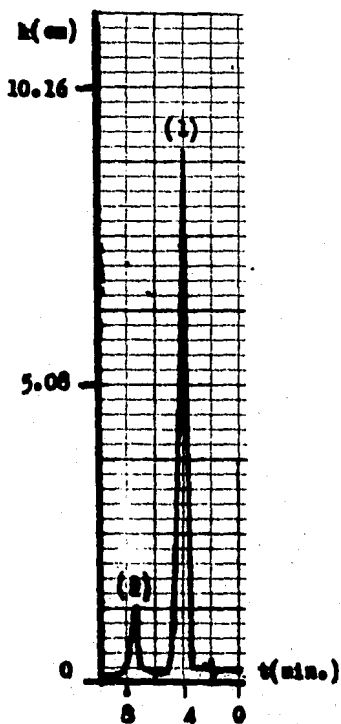
- (1) Disolución de referencia de ácido salicílico.
- (2) Disolución de muestra de tabletas simples.
- (3) Disolución de muestra de tabletas con buffer.
- (4) Disolución de muestra de tabletas recubiertas.



CRONATOGRAMA

De disolución de referencia de aspirina a una concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$. Los -
picos se identifican como sigue:

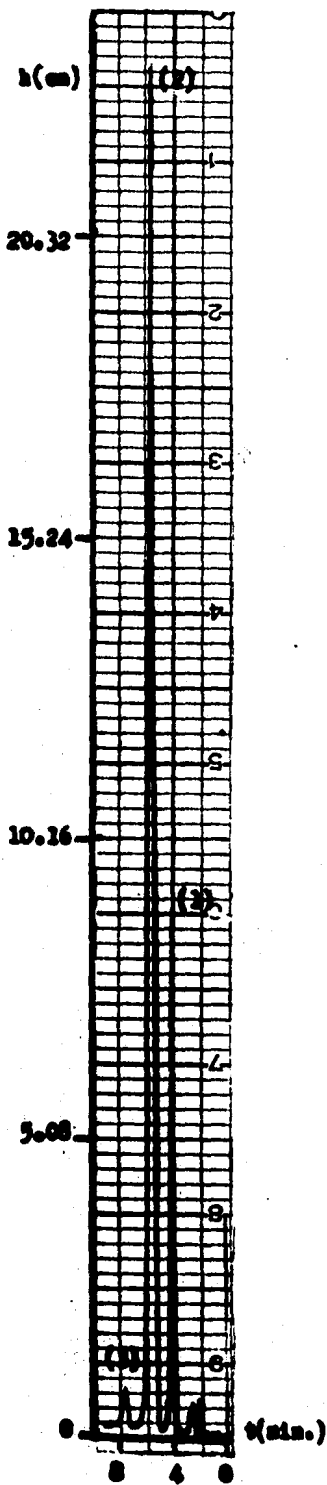
Compuesto	Tr (min.)
(1) Cafeína (Patrón de referencia interno)	3.8
(2) Aspirina	5.2



CRONATOGRAMA

De disolución de referencia de ácido salicílico a una concentración de 0.006 mg/ml. Los picos se identifican como sigue:

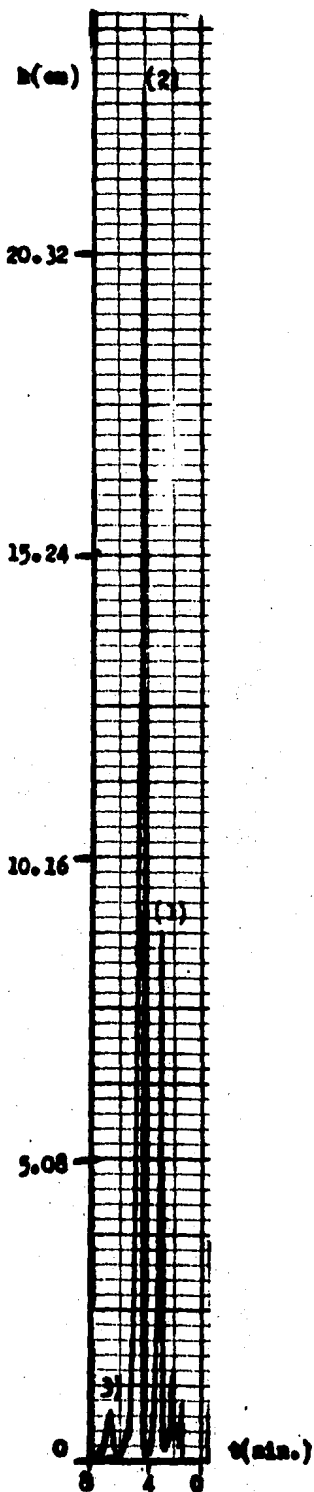
Compuesto	T _R (min.)
Cafeína (Patrón de referencia interno)	3.8
Ácido Salicílico	7.2



CRONATOGRAMA

De disolución de muestra de tabletas
simples. Los picos se identifican --
como sigue:

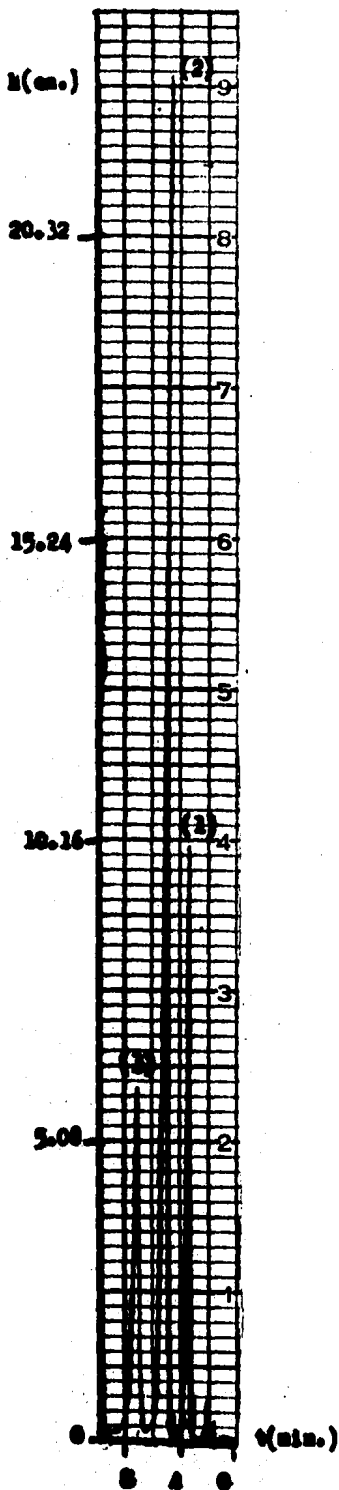
Compuesto	Tr (min.)
(1) Difenina (Patron de referencia interno)	3.8
(2) Aspirina	5.2
(3) Acido Salicílico	7.2



CRONATOGRAMA

De disolución de muestra de tabletas con buffer. Los pices se identifican como sigue:

Compuesto	Tr (min.)
(1) Cafeína (Patron de referencia - interno)	3.8
(2) Aspirina	5.2
(3) Acido Salicílico	7.2



CRONATOGRAMA

De disolución de muestra de tabletas recubiertas. Los picos se identifican como sigue:

Componente	Tr (min.)
(1) Cafeína (Patron de referencia - interno)	3.6
(2) Aspirina	5.2
(3) Acido Salicílico	7.2

CAPITULO V

ANALISIS DE RESULTADOS

Se realizó el estudio comparativo de métodos para determinar aspirina y ácido salicílico en tres tipos de tabletas: simples, con buffer y recubiertas.

Se efectuaron 10 determinaciones con cada método con el fin de evaluar la exactitud y precisión de cada uno de los métodos en estudio.

La exactitud se evaluó tomando en cuenta dos parámetros estadísticos: la media y el intervalo de confianza al 95% de probabilidad (2).

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (\text{media})$$

$$\text{I.C. } 95\% = \bar{x} \pm t \frac{s}{n}$$

Donde:

$$\sum_{i=1}^n x_i = \text{suma de todos los valores } x_i \text{ desde } i = 1 \text{ hasta } n.$$

n = número de observaciones.

$t(0.05, v)$ = valor crítico de t al 95% de probabilidad para v grados de libertad.

$v = n - 1$ grados de libertad.

La precisión se evaluó con los siguientes parámetros estadísticos: desviación estándar (s), variancia (V), coeficiente de variación (CV%) y el intervalo de confianza al 95% de probabilidad (2).

$$s = \left[\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$$

$$V = s^2$$

$$CV\% = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

Para demostrar si los métodos en estudio son estadísticamente equivalentes para la determinación de aspirina y ácido salicílico en los tres tipos de tabletas analizadas se compararon los resultados obtenidos con dichos métodos efectuando la prueba t de Student para la comparación de las medias y la prueba F de Fisher para la comparación de las variancias. Para tal fin se emplearon las siguientes ecuaciones (4):

$$t = \frac{\bar{x}_a - \bar{x}_b}{\sqrt{\frac{(n_a - 1)s_a^2 + (n_b - 1)s_b^2}{n_a + n_b - 2} \cdot \frac{n_a + n_b}{n_a n_b}}} \dots (XII)$$

$$F = \frac{s_a^2}{s_b^2} \dots (XIII)$$

Los resultados de las pruebas t de Student y F de Fisher se reportan en las siguientes páginas y sus valores nos indican que no hay diferencia significativa en la precisión y exactitud entre los métodos en estudio en cada uno de los tres tipos de tabletas de aspirina analizadas por lo que los métodos de espectrofotometría y cromatografía en columna son estadísticamente equivalentes con el de cromatografía de líquidos de alta presión.

Comparación estadística de la exactitud y precisión de los métodos espectrofotométrico y cromatográfico para la determinación de aspirina en tabletas simples.

TABLA 13

Parámetro estadístico	Método Espectrofotométrico	Método de Cromatografía de Líquidos de alta presión.
\bar{x}	102.16	101.37
s	0.832	0.872
v	0.693	0.771
CV%	0.813	0.866
I.C. 95%	(101.56-102.75)	(100.74-101.99)
n	10	10

$$t_{exp.} = 2.06$$

$$t_{(p=0.05, v=18)} = 2.10$$

$$F_{exp.} = 1.112$$

$$F_{(9)(9)} = 3.18$$

La diferencia en la exactitud y precisión de los métodos no es estadísticamente significativa a $p = 0.05$.

Comparación estadística de la exactitud y precisión de los métodos cromatográficos para la determinación de ácido salicílico en tabletas simples.

TABLA 14

Parámetro estadístico	Método de Cromatografía en columna.	Método de Cromatografía de Líquidos de alta presión.
\bar{x}	0.115	0.117
s	0.0267	0.0261
v	7.51×10^{-5}	6.839×10^{-5}
CV%	23.16	22.20
I.C. 95%	(0.096-0.134)	(0.099-0.136)
n	10	10

$$t_{exp.} = -0.1948$$

$$t_{(p=0.05, v=18)} = 2.10$$

$$F_{exp.} = 1.045$$

$$F_{(9)(9)} = 3.18$$

La diferencia en la exactitud y precisión de los métodos no es estadísticamente significativa a $p = 0.05$.

Comparación estadística de la exactitud y precisión de los métodos espectrofotométrico y cromatográfico para la determinación de aspirina en tabletas con buffer.

TABLA 15

Parámetro estadístico	Método espectrofotométrico	Método de Cromatografía de Líquidos de alta presión.
\bar{x}	100.82	101.02
s	1.197	1.192
v	1.434	1.421
CV%	1.187	1.180
I.C. 95%	(99.96-101.67)	(100.16-101.87)
n	10	10

$$t_{exp.} = 0.374$$

$$t_{(p=0.05, v=18)} = 2.10$$

$$F_{exp.} = 1.009$$

$$F_{(9)(9)} = 3.18$$

La diferencia en la exactitud y precisión de los métodos no es estadísticamente significativa.

Comparación estadística de la exactitud y precisión de los métodos cromatográficos para la determinación de ácido salicílico en tabletas con buffer.

TABLA 16

Parámetro estadístico	Método de Cromatografía en columna.	Método de Cromatografía de líquidos de alta presión.
\bar{x}	0.1348	0.1346
s	0.0241	0.0195
v	5.8×10^{-5}	3.8×10^{-5}
CV%	17.91	14.55
I.C. 95%	(0.117-0.152)	(0.120-0.148)
n	10	10

$$t_{exp.} = 0.024$$

$$t_{(p=0.05, v=18)} = 2.10$$

$$F_{exp.} = 1.526$$

$$F_{(9)(9)} = 3.18$$

La diferencia en la exactitud y precisión de los métodos no es estadísticamente significativa a $p = 0.05$.

Comparación estadística de la exactitud y precisión de los métodos espectrofotométrico y cromatográfico para la determinación de aspirina en tabletas recubiertas.

TABLA 17

Parámetro estadístico	Método espectrofotométrico	Método de Cromatografía de líquidos de alta presión.
\bar{x}	98.20	98.64
s	1.322	1.054
v	1.749	1.113
CV%	1.346	1.069
I.C. _{95%}	(98.10-99.14)	(97.89-99.39)
n	10	10

$$t_{exp.} = 0.822$$

$$t_{(p=0.05, v=18)} = 2.10$$

$$F_{exp.} = 1.571$$

$$F_{(9)(9)} = 3.18$$

La diferencia en la exactitud y precisión de los métodos no es estadísticamente significativa.

Comparación estadística de la exactitud y precisión de los métodos cromatográficos para la determinación de ácido salicílico en tabletas recubiertas.

TABLA 18

Parámetro estadístico	Método de Cromatografía en columna.	Método de Cromatografía de líquidos de alta presión.
\bar{x}	1.452	1.405
s	0.150	0.121
v	0.022	0.014
CV%	10.35	8.61
I.C. 95%	(1.344-1.559)	(1.318-1.491)
n	10	10

$$t_{exp.} = 0.771$$

$$t_{(p=0.05, v=18)} = 2.10$$

$$F_{exp.} = 1.541$$

$$F_{(9)(9)} = 3.18$$

La diferencia en la exactitud y precisión de los métodos no es significativa estadísticamente a $p = 0.05$.

CONCLUSIONES.

En el presente trabajo se efectuó el estudio comparativo de métodos para la determinación de aspirina y ácido salicílico libre en tabletas - simples, con buffer y recubiertas, siendo éstos, un método espectrofotométrico para la determinación de aspirina, un método de cromatografía en columna para la determinación de ácido salicílico y un método de cromatografía de líquidos de alta presión para la determinación simultánea de aspirina y ácido salicílico libre.

En el método espectrofotométrico se observaron varias ventajas como son la sencillez en su ejecución y su economía ya que es rápido y emplea poco material de laboratorio, así como de reactivos y de espacio. Es factible que un analista pueda realizar varios análisis en forma simultánea con este método.

En el método de cromatografía en columna se tienen algunas desventajas pues el tiempo para llevar a cabo un análisis es prolongado dado que necesita que algunos reactivos sean preparados al momento del ensayo, requiere de una mayor cantidad de material de laboratorio así como de espacio para su ejecución debido al montaje de la columna. Todo esto hace difícil que un analista pueda hacer varios ensayos en forma simultánea - por lo que el costo al efectuar varios análisis se ve aumentado al tener que emplear a más de una persona cuando se requieran tener dichos análisis en un tiempo razonable.

En el método de cromatografía de líquidos de alta presión se tiene que, a pesar del alto costo del equipo y de los disolventes que emplea, ofrece más ventajas en la determinación de aspirina y ácido salicílico libre en tabletas, pues la determinación de ambas sustancias se efectúa

en forma simultánea; la manipulación, así como el uso de material de laboratorio son mínimos. El tiempo de análisis es sumamente corto lo que hace posible que un solo analista pueda efectuar una mayor cantidad de ensayos que con los métodos espectrofotométricos y de cromatografía en columna por lo que el costo al efectuar varios análisis se ve reducido en forma notable.

A cada uno de los métodos estudiados se les evaluó su exactitud y precisión por medio de los parámetros estadísticos adecuados y se efectuó la comparación estadística empleando la prueba t de Student y F de Fisher con lo cual se demostró que no existe diferencia significativa entre los métodos por lo que se concluye que tienen la misma confiabilidad y por lo tanto el método de cromatografía de líquidos de alta presión puede sustituir en forma satisfactoria a los métodos espectrofotométrico y de cromatografía en columna para el ensayo de tabletas de aspirina en sus tres tipos por ofrecer más ventajas que dichos métodos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1) Abett D. y Andrews R.S.
Introducción a la Cromatografía
Edit. Alhambra
Madrid, España. 1980
pag. 1-5
- 2) Bauer, E.L.
Manual de Estadística para Químicos.
Edit. Alhambra.
Madrid, España 1974.
pag. 3-11
- 3) Maus R.G. & Cantwell P.F.
Determination of Salicylic Acid and Aspirin in Multicomponent Tablets
by Liquid Chromatography Nonionic Resin.
J. Pharm. Sci. 69, 1066-1069 (1978)
- 4) Carrillo S.R.
Apuntes del curso "Método Práctico para la Validación de Métodos
Analíticos" impartido por el Director de Control de Calidad de
Schering, I.Q. Rodolfo S. Carrillo.
- 5) Conner, K.A.
Curso de Análisis Farmacéuticos. 2a. Edición
Edit. Reverte S.A.
Barcelona, España. 1980
pag. 202-208
- 6) Bone, John H. et.al.
Applications of High-Speed Liquid Chromatography
John Wiley & Sons.
Great Britain. 1974
pag. 1-18

- 7) Juhl W.E. & Kirchoeffer R.D.
Semiautomated Determination of Aspirin in Bulk and Tablet Formulations and Salicylic Acid in Tablet Formulations.
J. Pharm. Sci. 69, 548-550 (1980).
- 8) Kirchoeffer R.D. & Juhl A.E.
Determination of Salicylic Acid in Bulk and Aspirin Formulation by High Pressure Liquid Chromatography Using a Fluorescence Detector.
J. Pharm. Sci. 69, 544-548. (1980)
- 9) Kirchoeffer Ross D.
Simultaneous Determination of Aspirin and Salicylic Acid in Bulk Aspirin and Plain, Buffered and Enteric-Coated Tablets by High Pressure Liquid Chromatography with U.V. and Fluorescence Detection.
J. Pharm. Sci. 69, 1188-1190 (1980).
- 10) Leon, Roberto
El Libro Basico para Cromatografia de Líquidos.
Hilton Roy Company.
Florida, USA. 1982
pag. 1-8 y 16-25.
- 11) Levine J. and Weber J.B.
Determination of Free Salicylic Acid in Buffered Aspirin Tablets
S. Pharm. Sci. 57, 631-633 (1968)
- 12) McWhir y Esquivel.
Cromatografia de Líquidos de Alta Presión
Departamento de Asuntos Científicos de la Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos.
Washington D.C. USA. 1973
pag. 1-8
- 13) Weber J.B. & Levine J.
Determination of Free Salicylic Acid and Aspirin in Aspirin Products.
J. Pharm. Sci. 55, 78-81 (1966).