

## INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

### FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES

FAX 5411-4340-0853

REPUBLICA ARGENTINA

## ÁCIDO SALICÍLICO

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 115024)

Ácido 2-hidroxibenzoico

$C_7H_6O_3$

P. Mol.: 138,1

**Descripción:** polvo blanco cristalino.

#### **Espectro de absorción infrarrojo:**

Sustancia tal cual.

Equipo: espectrómetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum Two.

Disco de KBr.

Concentración: aproximadamente 1 mg en 100 mg de KBr.

(Ver espectro adjunto).

**Pérdida por secado:** 0,0 % (Determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,001).

En desecador sobre gel de sílice.

Tiempo: 3 horas.

**Rango de fusión:** 158,8 – 160,2 °C (Promedio de 6 determinaciones).

Realizado sobre sustancia previamente secada al vacío sobre gel de sílice, durante 24 horas a temperatura ambiente.

Capilar colocado a 148 °C, con velocidad de calentamiento de 1 °C/minuto.

Equipo: Stanford Research Systems, OptiMelt, modelo MPA 100.

### **Espectro de absorción ultravioleta:**

**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Concentración de la solución: 0,016 mg/ml.

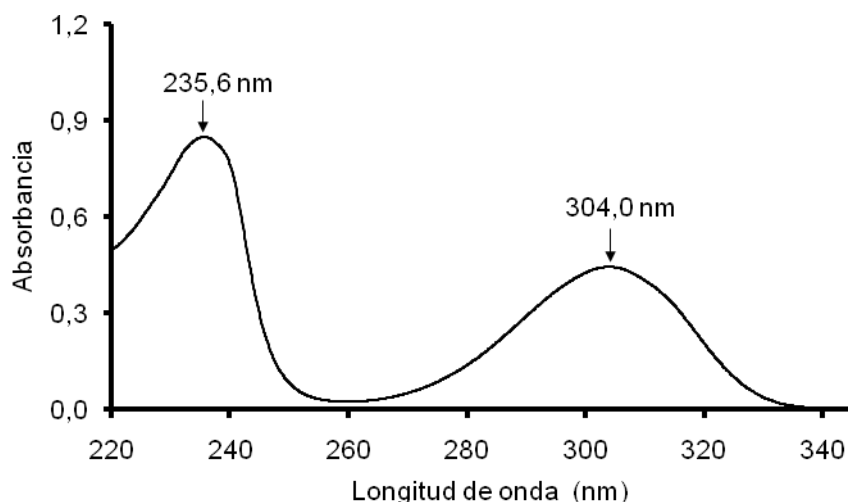
Disolvente: etanol de 96 °.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 220 y 350 nm, efectuado con velocidad lenta.

Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV 2700.



### **Absorbancia:**

Disolvente, cubetas, slit, equipo y precauciones: ídem "Espectro de absorción ultravioleta".

Concentración de la solución: 0.018 mg/ml.

$\lambda$ : 235,6 nm.

$A = 0,987$  (Determinaciones efectuadas: 11; desviación estándar: 0,005).

$\lambda$ : 304,0 nm.

$A = 0,515$  (Determinaciones efectuadas: 13; desviación estándar: 0,003).

**Nota:** la lectura de cada solución se realizó luego de 10 minutos de su preparación.

### **Cromatografía en capa delgada:**

**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Fase fija: cromatofolio de gel de sílice 60 F 254, 20 x 20 cm, Merck art. 5735.

Activación: 30 minutos a 80 °C. Previo a la activación se recomienda realizar una corrida de la placa con metanol para eliminar la interferencia que pudiera producirse por la aparición de una banda de absorción.

Fase móvil: n-butanol (saturado con amoníaco 6N, dejando decantar durante 24 horas) - acetona (50:50).

Disolvente de la muestra y de los testigos de impurezas: cloroformo - metanol (9:1).

Volumen sembrado de las soluciones A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C<sub>1</sub> y C<sub>2</sub>: 20  $\mu$ l.

Sustancia A (muestra): Ácido Salicílico.

Concentración de la solución A: 50 mg/ml.

Cantidad sembrada a: 1000 µg.

Sustancia B (testigo de la posible impureza): ácido 4-hidroxibenzoico.

Concentración de la solución B<sub>1</sub>: 0,025 mg/ml.

Cantidad sembrada b<sub>1</sub>: 0,5 µg.

Concentración de la solución B<sub>2</sub>: 0,015 mg/ml.

Cantidad sembrada b<sub>2</sub>: 0,3 µg.

Concentración de la solución B<sub>3</sub>: 0,005 mg/ml.

Cantidad sembrada b<sub>3</sub>: 0,1 µg.

Sustancia C (testigo de la posible impureza): ácido 4-hidroxiisoftálico.

Concentración de la solución C<sub>1</sub>: 0,012 mg/ml.

Cantidad sembrada c<sub>1</sub>: 0,24 µg.

Concentración de la solución B<sub>2</sub>: 0,006 mg/ml.

Cantidad sembrada c<sub>2</sub>: 0,12 µg.

Condiciones de desarrollo: cámara con recubrimiento interno de papel de filtro, saturada durante 1 hora.

Corrida de 14,5 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: luz UV de 254 nm.

Resultado:

R<sub>f</sub> de la mancha principal  $\cong$  0,44.

R<sub>f</sub> de las soluciones del testigo B  $\cong$  0,26.

R<sub>f</sub> de las soluciones del testigo C  $\cong$  0,12.

Para la cantidad sembrada de A, se detecta la mancha principal y dos manchas secundarias de R<sub>f</sub>  $\cong$  0,12 y R<sub>f</sub>  $\cong$  0,26, que se corresponden con los R<sub>f</sub> de los testigos.

La impureza de R<sub>f</sub>  $\cong$  0,12 (ácido 4-hidroxiisoftálico), por comparación con las cantidades sembradas c<sub>1</sub> y c<sub>2</sub>, ha sido estimada como menor a 0,024 % pero mayor a 0,012 %.

La impureza de R<sub>f</sub>  $\cong$  0,26 (ácido 4-hidroxibenzoico), por comparación con las cantidades sembradas b<sub>1</sub> y b<sub>2</sub>, ha sido estimada como menor a 0,05 % pero mayor a 0,03 %.

### **Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia:**

**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Equipo: cromatógrafo líquido de alta eficacia Shimadzu, modelo LC-20A, con procesador de datos LabSolutions.

Columna: Phenomenex-Luna C18 (2) 100 A; longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 5 µm.

Longitud de onda: 270 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: Solución A – metanol (63:37).

Solución A: agua – ácido acético glacial (60:1).

Flujo: 0,75 ml/minuto.

Disolvente: metanol – agua – ácido acético (70:30:4).

Muestra: Ácido Salicílico.

Concentración: 2,5 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Ácido Salicílico, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con disolvente y homogenizar.

Solución de referencia: Fenol + Ácido 4-hidroxiisoftálico + Ácido 4-hidroxibenzoico.

Concentración de Fenol: 0,0005 mg/ml.

Concentración de Ácido 4-hidroxiisoftálico: 0,00125 mg/ml.

Concentración de Ácido 4-hidroxibenzoico: 0,0025 mg/ml.

Preparación de la solución de referencia: pesar aproximadamente 1,25 mg de fenol, 3,125 mg de ácido 4-hidroxiisoftálico y 6,25 mg de ácido 4-hidroxibenzoico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con disolvente y homogenizar. Sonicar 10 minutos y transferir 1 ml de esta solución a un matraz de 25 ml, completar a volumen con disolvente y homogenizar.

Solución para aptitud del sistema: Fenol + Ácido 4-hidroxiisoftálico + Ácido 4-hidroxibenzoico.

Concentración de Fenol: 0,005 mg/ml.

Concentración de Ácido 4-hidroxiisoftálico: 0,0125 mg/ml.

Concentración de Ácido 4-hidroxibenzoico: 0,025 mg/ml.

Preparación de la solución para aptitud del sistema: pesar aproximadamente 0,5 mg de fenol, 1,25 mg de ácido 4-hidroxiisoftálico y 2,5 mg de ácido 4-hidroxibenzoico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con disolvente y homogenizar.

Volumen inyectado de las soluciones de muestra y de referencia: 20 µl.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 6.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 4.

Resultado: se detecta la presencia de cinco impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de los picos correspondientes en la solución de referencia
Ácido 4-hidroxibenzoico	8,6	0,041
Fenol	14,6	0,004
Ácido 4-hidroxiisoftálico	16,8	0,014
Ácido Salicílico	30,0	pico principal
Impureza desconocida	33,3	0,001*
Impureza desconocida	34,4	0,011*

\*Las impurezas desconocidas se estiman respecto del pico de Ácido 4-hidroxiisoftálico en la solución de referencia.

Impurezas totales estimadas: 0,07 %.

**Análisis térmico:** la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,99 moles %. (Determinaciones efectuadas: 6, coeficiente de variación: 0,001 %).

Equipo: termoanalizador Mettler Toledo, modelo DSC 821<sup>e</sup>.

Se emplearon crisoles de aluminio de 40 µl cerrados, con tapa perforada y con atmósfera de nitrógeno (caudal: 155 ml/min).

Temperatura inicial: 150 °C.

Velocidad de calentamiento: 2 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 159,0 °C (Determinaciones efectuadas:6).

**Valoración:** 99,8 %; calculado sobre la sustancia secada (Determinaciones efectuadas: 10; coeficiente de variación: 0,14 %).

Método: titulación potenciométrica con solución de NaOH 0.1 N.

Patrón primario: biftalato de potasio.

Disolvente de la muestra y del patrón primario: 50 ml de etanol de 96° - agua (50:50).

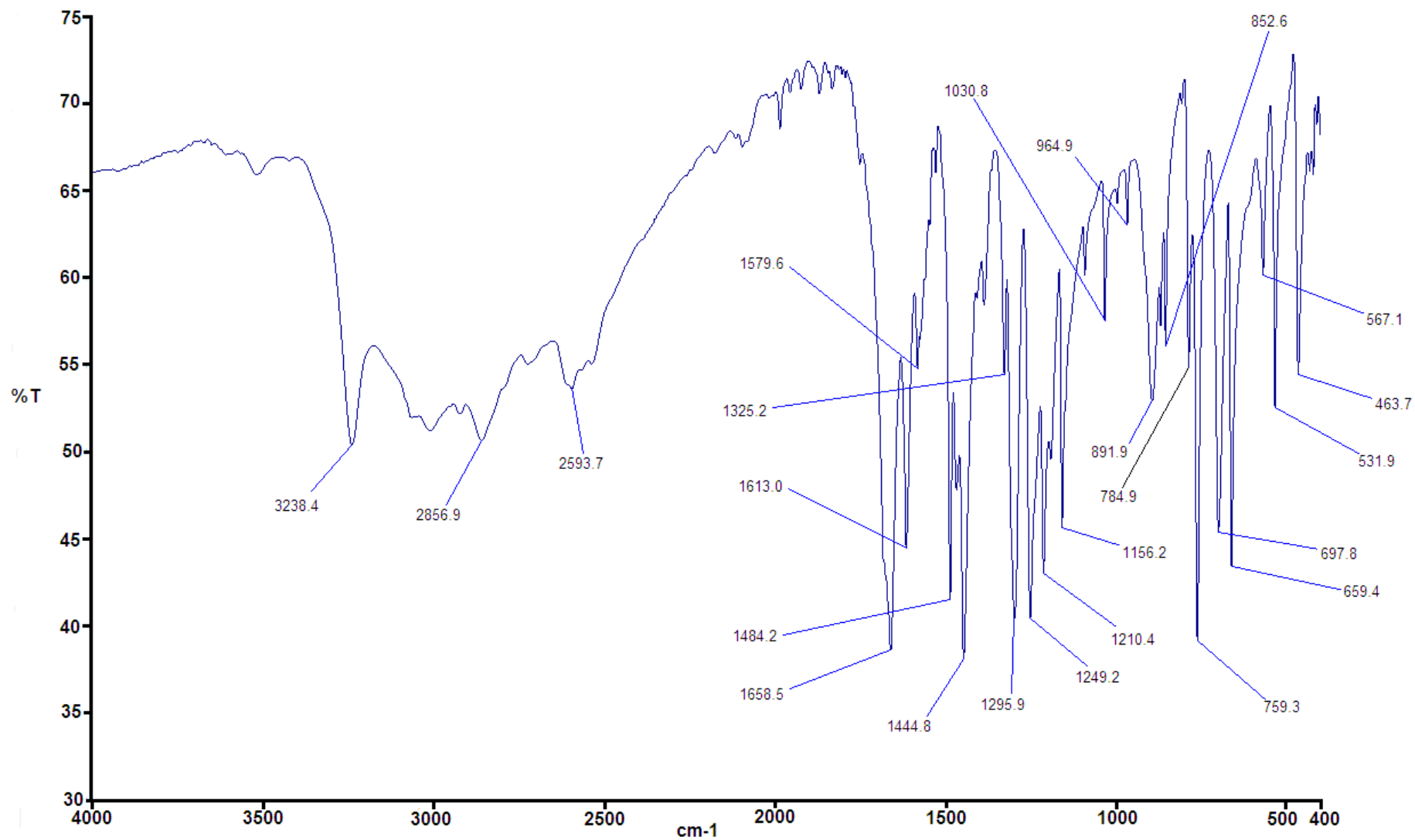
Equipo: titulador automático Metrohm, modelo Titrando 904.

Electrodo combinado: unitrode, Metrohm 6.0258.010.

**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

**Conservación:** esta Sustancia de Referencia debe conservarse al abrigo de la luz, en envase herméticamente cerrado, a  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  y en ambiente de baja humedad.

**Uso:** la Sustancia de Referencia Ácido Salicílico está destinada exclusivamente a ser usada en ensayos físico-químicos y no debe ser utilizada para consumo humano o animal. El riesgo y las eventuales consecuencias de su uso con propósitos diferentes al previsto será exclusiva responsabilidad del usuario.



**Ácido Salicílico – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina**