

Cambio en la redacción:

Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce

• (IRA 01-mar-2018)

DEFINICIÓN

El Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce se prepara a partir de Corteza de Especies de Sauce mediante extracción con disolventes hidroalcohólicos, acuosos u otros disolventes adecuados. Contiene no menos de 90,0% y no más de 110,0% de la cantidad declarada de salicilatos, calculados como salicina ($C_{13}H_{18}O_7$) con respecto a la materia anhidra. La relación entre el material vegetal inicial y el extracto está entre 5:1 y 20:1. Puede contener sustancias agregadas adecuadas.

IDENTIFICACIÓN

• A. HPTLC PARA ARTÍCULOS DE ORIGEN BOTÁNICO (203)

Solución estándar A: 1,50 mg/mL de ER Salicina USP en metanol

Solución estándar B: 30 mg/mL de ER Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce USP en metanol. Someter a ultrasonido durante 10 minutos, centrifugar y usar el sobrenadante.

Solución muestra A: Suspender la cantidad de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce calculada para contener 15 mg de salicina (después de la hidrólisis) en 10,0 mL de metanol. Someter a ultrasonido durante 10 minutos, centrifugar y usar el sobrenadante.

Solución muestra B: Combinar 5,0 mL de *Solución muestra A* con 1,0 mL de 50 mg/mL de carbonato de sodio anhidro. Tapar herméticamente e incubar a 60° durante 10 minutos. Centrifugar y usar el sobrenadante.

Sistema cromatográfico

Adsorbente: Gel de sílice para cromatografía con un tamaño promedio de partícula de 5 µm (placa para HPTLC)¹

Volumen de aplicación: 5,0 µL de *Solución estándar A*, de *Solución estándar B* y de *Solución muestra A*, y 6,0 µL de *Solución muestra B* en bandas de 8 mm

Humedad relativa: Acondicionar la placa a una humedad relativa de 33%.

Temperatura: Ambiente, que no exceda de 30°.

Fase móvil: Acetato de etilo, metanol y agua (77:13:10)

Distancia de desarrollo: 6 cm

Reactivo de derivatización: Ácido sulfúrico y metanol (1:9). Agregar lentamente ácido sulfúrico a metanol helado.

Análisis

Muestras: *Solución estándar A*, *Solución estándar B*, *Solución muestra A* y *Solución muestra B*

Aplicar las *Muestras* en bandas y secar al aire. Desarrollar en una cámara saturada y secar en una corriente de aire durante 5 minutos. Tratar con el *Reactivo de derivatización*, calentar a 100° durante 5 minutos y observar bajo luz blanca.

Apertura del sistema: Bajo luz blanca, el cromatograma derivatizado de la *Solución estándar B* presenta, en el tercio medio de la placa, tres bandas de color marrón: la inferior corresponde a la banda de salicina en la *Solución estándar A*; la banda por encima de esta se debe a salicortina; la banda superior se debe a tremulacina. Una banda tenue, que puede presentarse entre las bandas de salicortina y tremulacina, se debe a tremu-

loidina. Se observan dos bandas de color marrón más oscuro en el tercio inferior de la placa: una cercana a la línea de aplicación; otra, más intensa, por encima de la misma.

Criterios de aceptación: Bajo luz blanca, el cromatograma derivatizado de la *Solución muestra A* presenta una o varias bandas oscuras debidas a diferentes ésteres de salicina, cuyas posiciones e intensidades dependen de la especie de sauce usada. Las bandas de los salicilatos de interés se encuentran ubicadas predominantemente en el tercio medio de la placa, demarcadas por las bandas de salicina y tremulacina de la *Solución estándar B*. La banda de salicina en la *Solución muestra A*, correspondiente a la de la *Solución estándar A*, puede ser tenue o no observarse. Se pueden observar bandas adicionales en la *Solución muestra A* y la *Solución muestra B*. En la *Solución muestra B* no se encuentran presentes las bandas debidas a los ésteres de salicina, mientras que la banda de salicina correspondiente a la de la *Solución estándar A* es la banda principal observada. La banda de salicina en la *Solución muestra A* es de menor intensidad que la banda correspondiente en la *Solución estándar A*. La banda de salicina en la *Solución muestra B* es de intensidad comparable o mayor que la banda correspondiente en la *Solución estándar A*.

• B. HPLC

Análisis: Proceder según se indica en la prueba de *Perfil de Salicilatos y Límite de Salicina Libre*.

Criterios de aceptación: La *Solución muestra* presenta picos a los tiempos de retención correspondientes a los de salicina y derivados de salicina en la *Solución estándar*.

COMPOSICIÓN

• CONTENIDO DE SALICINA

Diluyente: Metanol y agua (1:1)

Solución A: Ácido trifluoroacético al 0,01%

Solución B: Acetonitrilo

Fase móvil: Ver la *Tabla 1*.

Tabla 1

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	90	10
10	85	15
30	50	50
32	10	90
35	10	90
37	90	10
45	90	10

Solución estándar: 0,50 mg/mL de ER Salicina USP en *Diluyente*

Solución muestra: Pesar con exactitud la cantidad de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce calculada para contener aproximadamente 30 mg de salicina, transferir a un matraz de fondo redondo de 200 mL y agregar 40 mL de metanol y 3 mL de hidróxido de sodio 1 N. Acoplar el condensador y calentar a reflujo durante 2 horas agitando intermitentemente. Dejar que se enfríe, neutralizar con 3 mL de ácido clorhídrico 1 N y pasar a través de un papel de filtro a un matraz volumétrico de 100 mL. Lavar el matraz de fondo redondo dos veces con alícuotas de 5 mL de metanol y filtrar en el mismo matraz volumétrico de 100 mL. Ajustar con agua a volumen, mezclar bien, dejar que se equilibre a temperatura ambiente y volver a ajustar con agua. Pasar a través de un filtro de PTFE

¹ La placa HPTLC Silica Gel 60 F₂₅₄ de EMD Millipore (p. ej., parte No. 1.05642.0001) es una placa adecuada disponible comercialmente.

2 Especies de Sauce

con un tamaño de poro de 0,45 µm, desechando los primeros 3 mL del filtrado.

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 270 nm

Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L1 desactivado para bases de 5 µm

Temperatura de la columna: 30°

Velocidad de flujo: 1,0 mL/min

Volumen de inyección: 10 µL

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar*

Requisitos de aptitud

Factor de asimetría: 0,8–2,0 para el pico de salicina

Desviación estándar relativa: No más de 2,0% para el pico de salicina en inyecciones repetidas

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

Usando el cromatograma de la *Solución estándar*, identificar el pico de salicina en el cromatograma de la *Solución muestra*.

Calcular el porcentaje de salicina derivada por hidrólisis de salicilatos constituyentes en la porción de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce tomada:

$$\text{Resultado} = (r_u/r_s) \times C_s \times (V/W) \times 100$$

r_u = área del pico de salicina de la *Solución muestra*

r_s = área del pico de salicina de la *Solución estándar*

C_s = concentración de ER Salicina USP en la *Solución estándar* (mg/mL)

V = volumen de la *Solución muestra* (mL)

W = peso de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce tomado para preparar la *Solución muestra* (mg)

Calcular el porcentaje del contenido declarado de salicina en la porción de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce tomada:

$$\text{Resultado} = (P/L) \times 100$$

P = porcentaje de salicilatos, según se determinó anteriormente

L = contenido declarado de salicina

Criterios de aceptación: 90,0%–110,0% de la cantidad declarada de salicilatos, calculados como salicina con respecto a la materia anhidra.

CONTAMINANTES

- **ARTÍCULOS DE ORIGEN BOTÁNICO (561)**, *Análisis de Residuos de Plaguicidas*: Cumple con los requisitos.
- **EXTRACTOS BOTÁNICOS (565)**, *Preparaciones, Requisitos Farmacopeicos Generales, Disolventes Residuales*: Cumple con los requisitos.
- **PRUEBAS DE RECUENTO MICROBIANO (2021)**: El recuento total de microorganismos aerobios no excede de 10⁴ ufc/g y el recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras no excede de 10³ ufc/g.
- **AUSENCIA DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS (2022)**, *Procedimientos de Prueba, Prueba de Ausencia de Salmonella spp. y Prueba de Ausencia de Escherichia coli*: Cumple con los requisitos.

PRUEBAS ESPECÍFICAS

• PERFIL DE SALICILATOS Y LÍMITE DE SALICINA LIBRE²

Diluyente, Fase móvil y Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en la prueba de *Contenido de Salicina*.

Solución estándar: 5 mg/mL de ER Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce USP en *Diluyente*. Someter a ultrasonido durante 5 minutos, mezclar bien y pasar a través de un filtro de PTFE con un tamaño de poro de 0,45 µm, desechando los primeros 3 mL del filtrado.

Solución muestra: Pesar la cantidad de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce calculada para contener aproximadamente 15 mg de salicina, transferir a un matraz volumétrico de 50 mL, agregar 25 mL de metanol y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Ajustar con agua a volumen, mezclar bien, dejar que se equilibre a temperatura ambiente y volver a ajustar con agua. Pasar a través de un filtro de PTFE con un tamaño de poro de 0,45 µm, desechando los primeros 3 mL del filtrado.

Aptitud del sistema

Requisitos de aptitud: El cromatograma de la *Solución estándar* es similar al cromatograma de referencia provisto con el lote de ER Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce USP usado.

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

Usando el cromatograma de la *Solución estándar* y el cromatograma de referencia provisto con el lote de ER Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce USP usado, identificar los ésteres de salicina presentes en el cromatograma de la *Solución muestra*. Los tiempos de retención relativos aproximados, con respecto a salicina, se listan en la *Tabla 2*.

Tabla 2

Analito	Tiempo de Retención Relativo
Salicina	1,0
Salicortina	3,0
Tremuloidina	3,6
Tremulacina	4,6

Criterios de aceptación: El área del pico de salicina es no más del 50% de las áreas combinadas de los picos de todos los salicilatos constituyentes identificados.

- **DETERMINACIÓN DE AGUA (921)**, *Método I, Método Ia*: No más de 5,0%
- **ARTÍCULOS DE ORIGEN BOTÁNICO (561)**, *Métodos de Análisis, Cenizas Totales*
Muestra: 2,0 g de Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce
Criterios de aceptación: No más de 5,0%

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases bien cerrados. Proteger de la luz y la humedad. Almacenar a temperatura ambiente.

Cambio en la redacción:

- **ETIQUETADO:** La etiqueta indica el nombre científico en latín de una o varias especies de Sauce de donde se preparó el artículo. La etiqueta también indica el contenido de salicina, el disolvente de extracción usado en la preparación del extracto y la relación entre el material vegetal crudo inicial y el extracto seco. Cumple con los requisitos de etiquetado de *Extractos Botánicos (565)*. • Las formas farmacéuticas preparadas con este artículo deben llevar la siguiente leyenda: No usar en niños, mujeres embarazadas o lactantes, o en personas con una sensibilidad conocida a la aspirina. • (IRA 01-mar-2018)

² Un contenido elevado de salicina libre puede indicar prehidrólisis o fortificación con salicina extraña.

- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP** <11>
 - ER Salicina USP
 - ER Extracto Seco de Corteza de Especies de Sauce USP
 - (IRA 01-mar-2018)