

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

COMPARACION DE LOS METODOS QUIMICOS Y MICROBIOLOGICO, PARA LA DETERMINACION DEL SULFATO DE KANAMICINA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO-FARMACEUTICO-BIOLOGO
PRESENTA

GEORGINA VEGA ROSALES



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis Padres con inmenso cariño,
por sus palabras siempre alenta-
doras en mis estudios.

Con todo cariño y respeto a mi Maestra
Q.F.B. Etelvina Medrano de Jaimes, por
su acertada dirección en ésta Tesis.

Con todo respeto al Maestro
Q. Nicolás Jaimes.

A mi compañera y amiga, amiga Q.F.B.
Andrea Valdepeña P.

RECONOCIMIENTOS.

Hago patente mi agradecimiento al Dr. Pedro Pérez Grovas, Director del Laboratorio Nacional de Salubridad, que por su generosidad hizo posible realizar éste trabajo en el Departamento de Control de Medicamentos. Así como agradezco a las Sritas. Q.F.B. Virginia Segovia C. y Dinorah Chávez L. por su entusiasta cooperación.

CAPITULOS:

I.- INTRODUCCION	Pág. 1.
II.- GENERALIDADES	" 3.
III.- PARTE EXPERIMENTAL..	21.
IV.- RESULTADOS.....	" 32.
V.- CONCLUSIONES	" 36.
VI.- BIBLIOGRAFIA	" 38.

I.- INTRODUCCION.

INTRODUCCION.

Se han realizado innumerables estudios sobre el fenómeno -- del Antagonismo Biológico entre microorganismos, descrito primeramente por Pasteur y Jouvert en 1877, donde se demostró que era posible -- impedir el desarrollo del ántrax, si se inyectaban simultáneamente -- algunas bacterias comunes que destruían el agente etiológico, fenómeno que más tarde fué utilizado en el tratamiento de algunas enfermedades infecciosas.

Estudiáronse también, técnicas de aislamiento de estos microbios antagonistas.

Los experimentos en animales de laboratorio, fueron hechos por Emmerich en 1887, quien introdujo la Píocianasa en Medicina, con el fin de combatir la Difteria.

En el año de 1889, Villemin inició el término "Antibiosis" que fué el precedente de "Antibiótico", como se conoce actualmente.

Más tarde se logró aislar el principio activo en forma cristalina como la Tirotricina, cuyo uso quedó limitado por sus propiedades tóxicas.

Finalmente en 1940, un grupo de investigadores de Oxford -- (Chain, Florey y cols.), lograron la obtención de la Penicilina, la -- cuál había sido observada ya por Fleming desde 1929.

A partir de estas fechas, se consolida definitivamente la -- producción en gran escala de diversos antibióticos, hasta constituir en la actualidad un grupo muy importante de medicamentos para combatir las enfermedades infecciosas, así como también representan uno de los principales renglones económicos en la Industria Farmacéutica.

Cada día es mayor el número de antibióticos que se descubren y debido a la diversidad en sus estructuras químicas, hacen ne--

cesario el conocer métodos adecuados para valorar la pureza de éstos medicamentos.

Como la mayor parte de las valoraciones, descritas en libros y Farmacopeas con métodos Microbiológicos, éstos requieren para llevarlos a cabo, muchas manipulaciones, material adecuado, etc, siendo además, el tiempo en que se efectúa muy grande y el porcentaje de error muy amplio.

Esto ha llevado a la necesidad de buscar métodos Químicos, que sean más rápidos, menos laboriosos y con los cuáles se obtengan mejores resultados.

El presente trabajo compara el método Microbiológico, con los métodos Químicos, con el fin de observar las variaciones que presentan y de ahí, escoger el más apropiado para el medicamento que se ensaya.

II.- GENERALIDADES.

GENERALIDADES.

En este capítulo se presenta una recopilación en forma somera, de los principales estudios relacionados con el antibiótico en-
sayado en este trabajo.

La Kanamicina fue descubierta por Umezawa y cols.⁽¹⁾⁽¹⁴⁾, en los -
productos de fermentación del *Streptomyces Kanamyceticus*, es un anti-
biótico básico, semejante a un trisacárido, que está compuesto de dos
fracciones de aminoazúcares ligados glicosídicamente a la 2-Deoxys-
treptamina.

Se inició la investigación, cuando se aisló la cepa K-2J a
partir de una muestra de tierra, original de la Prefectura Nagano,⁽²⁾ ob-
teniéndose un filtrado de cultivo que tenía la propiedad de inhibir -
al *Micrococcus pyogenus*, var. *aureus*; *Echerichia coli* y *Mycobacterium*
607.

El descubrimiento se realizó, cuando se intentaba producir
antibióticos básicos solubles en agua, observándose la presencia de -
un pigmento café oscuro, en crecimientos que comúnmente se mostraban
de incoloros a un color amarillento, siendo asignado dicho pigmento a
una nueva especie llamada *Streptomyces kanamyceticus*.

El primer cultivo de la cepa K-2J fue hecho en la planta piloto de U-
mezawa, usando un medio que contenía 1.2% de Almidón; 0.5% Glucosa; -
1.2% Harina de Soya; 0.3% Peptona; 0.05% Cloruro de Potasio; 0.05% --
Sulfato de Magnesio heptahidratado; 0.1% Fosfato Ácido de Potasio; --
0.3% Cloruro de Sodio y 0.3% de Carbonato de Calcio. (pH 7.0).

Después de 78 horas, se obtuvo la máxima producción del an-
tibiótico, en una cantidad de 273 mcg/ml.

La purificación de la Kanamicina,⁽²⁾ se efectuó mediante una -
columna de resinas intercambiadoras de cationes, del tipo de Ácidos -

Carboxílicos ó Ácido Fosfórico, se eluyó con Ácido Clorhídrico, Ácido Sulfúrico ó Amoníaco acuoso, pueda usarse también una resina intercambiadora de cationes del tipo del Ácido Sulfúrico eluyendo con Amoníaco acuoso. La repetición del proceso dió un Clorhidrato, Sulfato ó Base libre más puros.

Para la preparación del sulfato cristalino, la solución acuosa de la Kanamicina Base obtenida, se ajustó a un pH de 7.8 á 8.2 con Ac. Sulfúrico y el Sulfato se cristalizó de ésta solución mediante la adición del mismo volumen de metanol. En lugar de éste solvente pueden usarse otros que sean miscibles en agua. El pH de la solución acuosa del Sulfato, es ligeramente influenciado por la concentración.

Cuando se examinó el filtrado de la cepa K-2J, por Cromatografía en Papel y se eluyó con Ácido p. Toluén Sulfónico al 2% en Butanol y Agua, se obtuvieron dos manchas, la más grande presentó un Rf de 0.1 á 0.26 y la otra de 0.21 á 0.37, ésta última fué menos activa a la Mycobacterium 607 que al Bacillus subtilis, a dicha sustancia se le llamó Kanamicina B que se extrajo y purificó por el proceso de la Resina intercambiadora de cationes y a la primera se le llamó Kanamicina A.

Estructura de la Kanamicina⁽³⁾

Pasándose en la obtención del Sulfato, la Base cristalina, los Derivados N-acetilados y los Derivados N-O-acetilados, así como en las Bases de Schiff, preparados a partir de la Kanamicina, Umezawa y colaboradores propusieron la siguiente fórmula: $C_{18}H_{36}N_4O_{11}$.

El Sulfato cristalino existe en forma de monohidrato, en el cual el agua difícilmente se elimina.

Es insoluble en alcoholes comunes y solventes no polares, es muy solu⁽⁴⁾

ble en agua. Se presenta como un polvo blanco ó blanco amarillento, es inodoro, su peso molecular es de 600. Es un compuesto muy estable, mostrando una pérdida menor del 10% después de someter en Autoclave una solución acuosa por una hora a 120⁽⁵⁾.

La Kanamicina Base no da un espectro de absorción característico en el Ultra Violeta. Da pruebas positivas de Molish, Ninhidrina y Elson Morgan. Las pruebas para azúcares reductores como Sakaguchi⁽¹¹⁾ y Maltol, las da negativas.

Al tratarla con Acido Sulfúrico al 40%, durante 100 minutos a 100°C, produjo un compuesto con un espectro similar al del Furfural en el Ultra Violeta.

La presencia de cuatro grupos Amino en la Kanamicina, fué indicada por la determinación de Nitrógeno por el método de Van Slyke, por la formación del Tetra-N-acetato y por las bases de Schiff.

Por Cromatografía en Papel de preparaciones de Kanamicina, se reveló un segundo antibiótico denominado Kanamicina B, el cuál se aisló y caracterizó.

Los dos antibióticos fueron mejor separados con el sistema de Peter⁽²⁾, que usa también Acido p-Toluen Sulfónico al 2% en Butanol y Agua, pero usando papel Schleicher & Schuell 589 Blue Ribbon ó papel Whatman No. 1, con el primero la Kanamicina A tiene un Rf aproximado de 0.35 y la Kanamicina B de 0.6.

En éste sistema la presencia de impurezas ó sales contaminantes, interfieren marcadamente en la Cromatografía.

El espectro Infrarrojo de los dos antibióticos es similar indicando la presencia de compuestos Poliamino, Polihidroxilo y la ausencia de grupos Carbonilo y de Dobles ligaduras.

(6)

Para poder estudiar la estructura de la Kanamicina, ésta --
fue hidrolizada por ebullición durante 15 minutos, en ácido Clorhí-
drico 4N, ⁽¹⁵⁾ obteniéndose tres productos que dan la reacción de Ninhidri-
na intensamente positiva, los cuáles pueden ser separados en papel --
Whatman 52 con n-Butanol, Ac. Acético y Agua en la relación de 4: 1:
5, dando valores de Rf de 0.02; 0.06 y 0.10.

Los dos productos que se mueven más rápido, dan pruebas re-
ductoras positivas, sugiriendo la presencia en la Kanamicina de dos --
Aminoazúcares glicosídicamente unidos a una base hidroxilada.

La sustancia de Rf 0.02 se obtuvo al estado cristalino por
hidrólisis con Ácido Clorhídrico 6N durante 45 minutos a 100°C, segú-
n por concentración, precipitación con alcohol y recristalización de
alcohol-agua.

Este compuesto es el Diclorhidrato de un alcohol dibásico -----
 $C_6H_{14}N_2O_3 \cdot 2 HCl$, que es ópticamente inactivo y fue caracterizado --
mediante la obtención de sus derivados Penta-acetato, Di-N-acetato, --
Base libre y Dibromhidrato.

Por comparación del espectro Infrarrojo, el Dibromhidrato y la sal de
1, 3 diamino 4, 5, 6 Trihidroxiciclohexano (2-Deoxystreptamina), se --
encontraron idénticos. (Dicha sal fue aislada de la Neomicina).

El segundo componente de la Kanamicina que presentó un Rf --
de 0.06 fue cristalizado como un Clorhidrato de fórmula -----
 $C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$, y caracterizado por sus derivados N-acetil y Penta-a-
cetil, presentando las propiedades de una Aminohexosa.

La Aminohexosa de Rf 0.06 y su derivado N-acetil, se hicie-
ron reaccionar con solución de Forydato, encontrándose que consumían
4 moles, produciendo posteriormente 3 moles de Ácido Fórmico y ningun-

na de Formaldehído.

La dsaminación con Ac. Nítrico de el Tetra-*p*-acetil derivado y reacetilación dieron un Penta-acetato de α -D-glucopiranosaa.

En conclusión se dice que la Aminohexosa debe ser la 6-amino-6-deoxy-D-glucosa (6-D-Glucosamina), lo cuál se verificó mediante el punto de fusión y la comparación de su Infrarrojo con el del derivado Penta-acetil de la 6-amino-6-deoxy-D-glucosa auténtica.

La tercera fracción de Kanamicina ⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽¹⁵⁾ de Rf 0.10 fué aislada -- por Cromatografía en resina intercambiadora de iones, como un Clorhidrato amorfo y por medio de cristalización fraccionada, como el derivado N-acetil, p.f. 199-202 (desc) y finalmente fué caracterizada como el derivado de una Monoaminohexosa de fórmula $C_6H_{13}NO_5$.

El derivado N-acetil al ser tratado con solución diluida de Peryodato, consumió rápidamente una mol, liberando simultáneamente una mol. de Ac. Fórmico, estableciéndose así su estructura como la de una Aldohexosa.

Tratando al mismo derivado con un exceso de Peryodato a pH de 7.0 se produjeron 2.6 moles de Ácido Fórmico y 0.7 moles de Formaldehído, valores similares fueron obtenidos en un experimento paralelo con N-acetil-2-Glucosamina, estableciendo la presencia de un hidroxilo terminal primario a la estructura de una Aldohexosamina de cadena lineal recta.

El tratamiento de la N-acetil Kanamicina con solución 0.5N de $NaIO_4$ a pH de 2.5 originó un consumo rápido de dos moles de Peryodato con la formación de una mol de Ácido Fórmico y ninguna de Formaldehído ó Amoníaco.

La Cromatografía en Papel de la mezcla de reacción del pro-

ducto de la hidrólisis ácida, mostró que la Deoxystreptamina y la Hexosamina de Rf 0.10, resistieron la oxidación Peryódica, pero que la 6-Glucosamina había sido destruida.

Los resultados confirmaron la presencia en Kanamicina de una 3-amino-3-deoxyaldohexopiranosaa glicosidicamente unida a una molécula de Deoxystreptamina.

Por Deaminación con Ácido Nitroso del derivado o-acetilado crudo de la hexosamina de Rf 0.10 y posterior Reacetilación, se obtuvo el Penta-acetato de -D-Glucopiranosaa. Suponiendo no inversión a -- carbonos 2 ó 4, éste producto pudo provenir de 3-amino-3-deoxy-D-Allo-sa ó de 3-amino-3-deoxy-D-Glucosa.

La Hexosamina de la Kanamicina mostró ser la 3-amino-3-deoxy-D-Glucosa (3-D-Glucosamina) por comparación del Penta-acetato y derivados Tetra-acetato-metil-glicósido, con muestras auténticas sintéticas. (16)

La Kanamicina Base se hidrolizó bajo condiciones suaves -- (ebullición en Ácido Clorhídrico 2N, durante 2 horas) y los productos fueron separados por Cromatografía en Papel, obteniéndose dos manchas separadas que corrieron entre la Kanamicina recuperada y la Deoxystreptamina, dichas manchas se eluyeron, hidrolizaron y recromatografiaron separadamente.

De la que se movió más rápidamente, se obtuvieron Deoxystreptamina y 3-Glucosamina. De la más lenta, Deoxystreptamina y 6-Glucosamina.

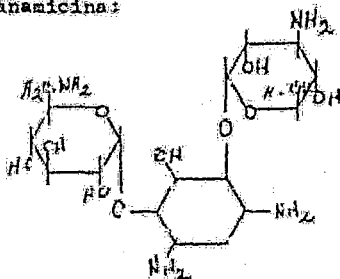
Esta prueba que ambas Hexosaminas se encuentran ligadas glicosidicamente a la Deoxystreptamina.

Haciendo reaccionar a la Kanamicina Base con solución de -- Peryodato a pH de 4-5, se consumieron rápidamente 6 moles.

Cromatografiando en Papel la mezcla de reacción del producto de la hidrólisis, se demostró la presencia de la Deoxystreptamina y la completa ausencia de la 6-Glucosamina y la 3-Glucosamina. La resistencia de la Deoxystreptamina bajo esas condiciones de reacción, - fué evidenciada por la sustitución en sus posiciones 4 y 6.

Las uniones glicosídicas entre las Aminohexosas y la Deoxystreptamina se cree son de configuración alfa, por la presencia de determinadas bandas en el espectro Infrarrojo⁽²⁾ de la Kanamicina Base).

Estos datos nos permiten escribir la siguiente estructura - de la Kanamicina:



Aunque la Deoxystreptamina es una forma base con configuración trans, las posiciones 4 y 6 en esta fracción no son estereoquímicamente equivalentes.

Estructura de las Kanamicinas⁽²⁾⁽⁷⁾⁽¹²⁾

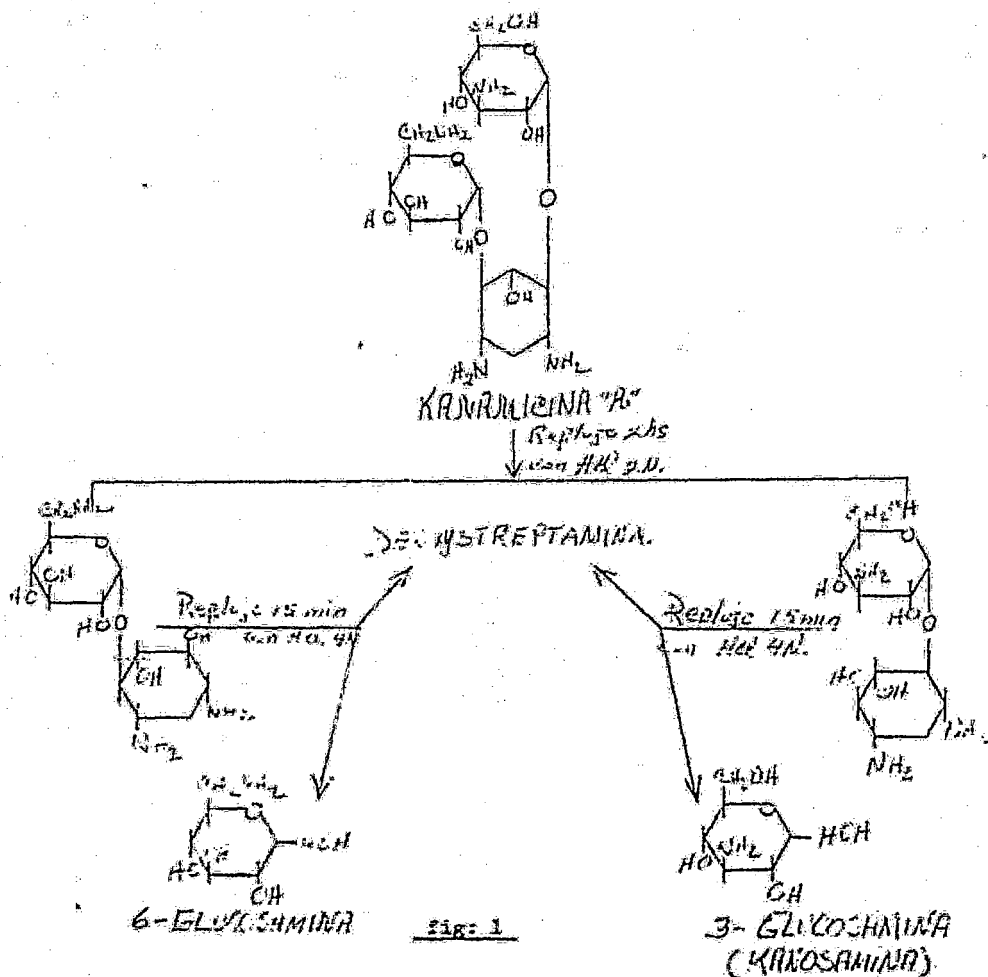
Estos compuestos contienen un núcleo central que es la Deoxystreptamina y las uniones en esta fracción se encuentran en las posiciones - cuatro y seis.

En la Kanamicina A, las Hexosas unidas son las 3-amino-3-deoxy-D-Glucosa y la 6-amino-6-deoxy-D-Glucosa. La estructura de esta Kanamicina fué demostrada independientemente por dos grupos de inves-

tigadores, uno de E.U. y Canadá y el otro de Japón.⁽⁷⁾

Los estudios realizados por el primer grupo, son los que se describen a continuación.

Después de someter a la Kanamicina A, a una hidrólisis suave, encontraron dos fragmentos, los cuáles contenían Deoxystreptamina pero uno contenía además a la 3-aminoglucosa y el segundo a la 6-aminoglucosa (fig.1). Así fue establecida la posición central de la Deo-



xyatroptamina.

La demostración de la estructura de la 3-Glucosamina (Kanosamina), incluye la oxidación Peryódica de la N-acetil Kanosamina, la cual consume una mol de Peryodato, dando una mol de ácido Fórmico (fig: 2).

Por Deaminación con ácido Nitroso de la Tetra-o-acetil Kanosamina y Reacetilación, obtuvieron una Penta-acetil- α -Glucopiranososa. Finalmente se encuentra la síntesis por el método de Peat y Wiggins, de una muestra auténtica de la sustancia.

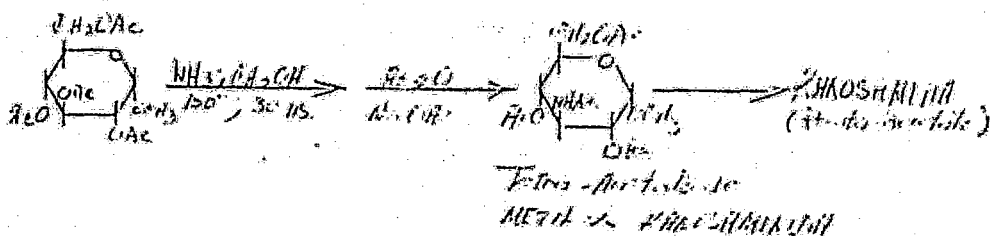
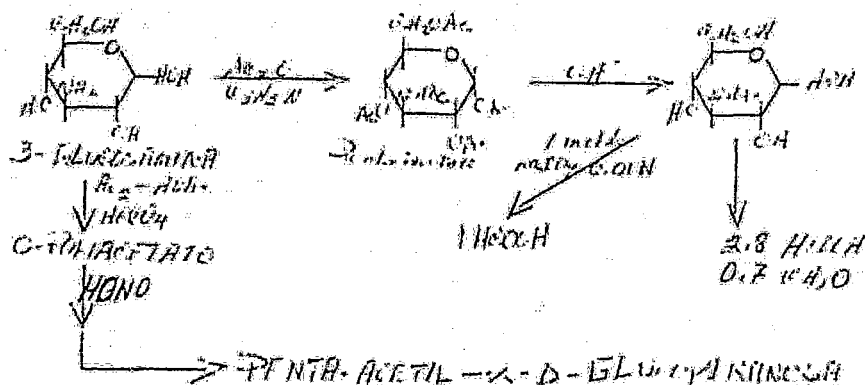


fig: 2

Similarmente se estableció la estructura de la 6-amino-glucosa, por la demostración de que el amino-azúcar y los derivados N-a-

acetilados consumen cantidades idénticas de Peryodato, así como porque la Deaminación con Ácido Nitroso del Tetra-p-acetil-6-amino-glucosa y siguiente Reacetilación, dió lugar a la formación de el Penta-acetil- α -D-Glucopiranos. (fig: 3).

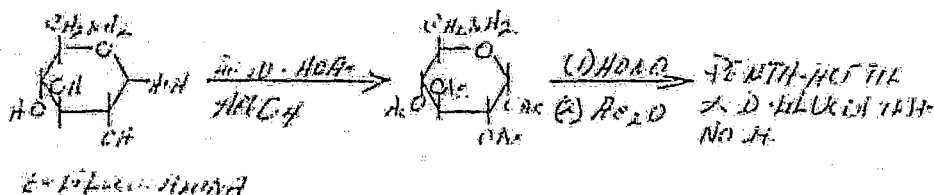


fig: 3

La oxidación Peryódica de la Kanamicina A, destruyó a las 3 y 6 Glucosaminas, pero no a la Deoxystreptamina, lo que estableció la presencia de una ligadura en la molécula, entre el Carbón 4 y el Carbón 6. (fig: 4). El derivado de el Tetra-N-acetil también por oxidación consumió dos moles de Peryodato, produciendo una mol de Ácido Fórmico, - con subsiguiente hidrólisis de el producto se obtuvo la Deoxystreptamina y la 3-Glucosamina, más no a la 6-Glucosamina.

Esta oxidación estableció la forma Piranos en la 3-Glucosamina y en la 6-Glucosamina.

La unión alta de las Aminohexosas, en la Kanamicina, fué -- establecida por la positiva contribución de el centro Anomérico de -- cada una en el Poli-acetato, así como por las bandas Infrarrojas atribuíbles a las alfa ligaduras.

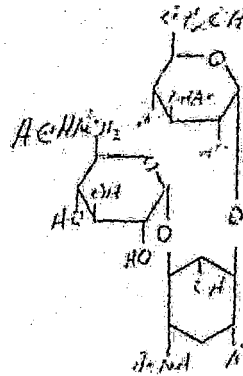
(13)

KRAMNICINA
Sesquiterpene

6 moles de NaIO_4
a pH 4-5

$[\text{H}_2\text{O}]$

DEOXYSTREPTAMINA
Nº 3-FLUCOSAMINA &
6-FLUCOSAMINA.



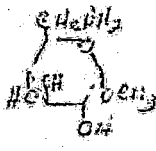
2 moles de
 NaIO_4 0.5N
a pH 2-5

1 (CUDH
OCH₂CH₂)

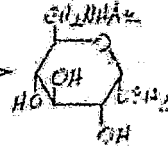
$[\text{H}_2\text{O}]$

DEOXYSTREPTAMINA
KRAMNICINA
y Nº 6-FLUCOSAMINA.

ESK: 4.



$\xrightarrow[\text{H}_2\text{O}]{\text{NaIO}_4}$
 $\text{H}_2\text{O}, \text{CH}_3\text{OH}$



2-metil-6-Glucosaminda

$\xrightarrow{\text{HCl 4N}}$



5-fluoro-2-metil-Furforal.



ESK: 5.

(14)

El trabajo Japonés acerca de la estructura de la Kanamicina A, sigue un patrón similar al ya descrito.

Por Metanólisis, se obtuvieron la conocida Deoxystreptamina la metil-6-Glucosaminida y la metil-Kanosaminida.

La estructura (excepto estereoquímica) de la metil-6-Glucosaminida, fué establecida por el consumo de dos moles de Peryodato (sin formación de Formaldehído), por su derivado N-acetil y por su hidrólisis degradativa hasta 5-amino-metil-Furfural. (fig: 5).

Fuó entonces determinada la estructura de metil-Kanosaminida, por el consumo de Peryodato en una cantidad de dos moles y por no suceder lo mismo con su derivado N-acetil.

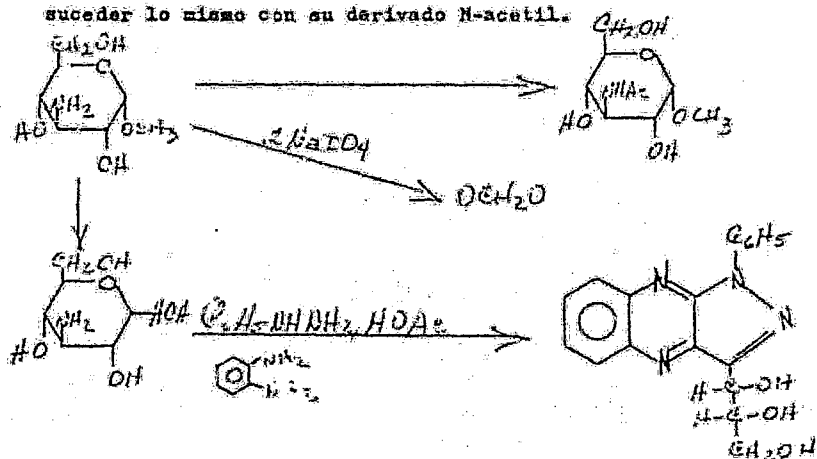


fig: 6

En la figura 6, se demuestra estereoquímicamente, que la unión entre C4 y C5 fué establecida por su conversión a 3-(D-eritro 1,2,3 Trihidroxipropil) 1-Fenil-Flavazol,

La estructura de el antibiótico intacto, fué entonces determinada primero por el aislamiento del derivado Metilado de la Deo-

xystreptamina y segundo por el consumo de dos moles de Peryodato de -
la N-Tetra-acetil Kanamicina A. (fig: 7).

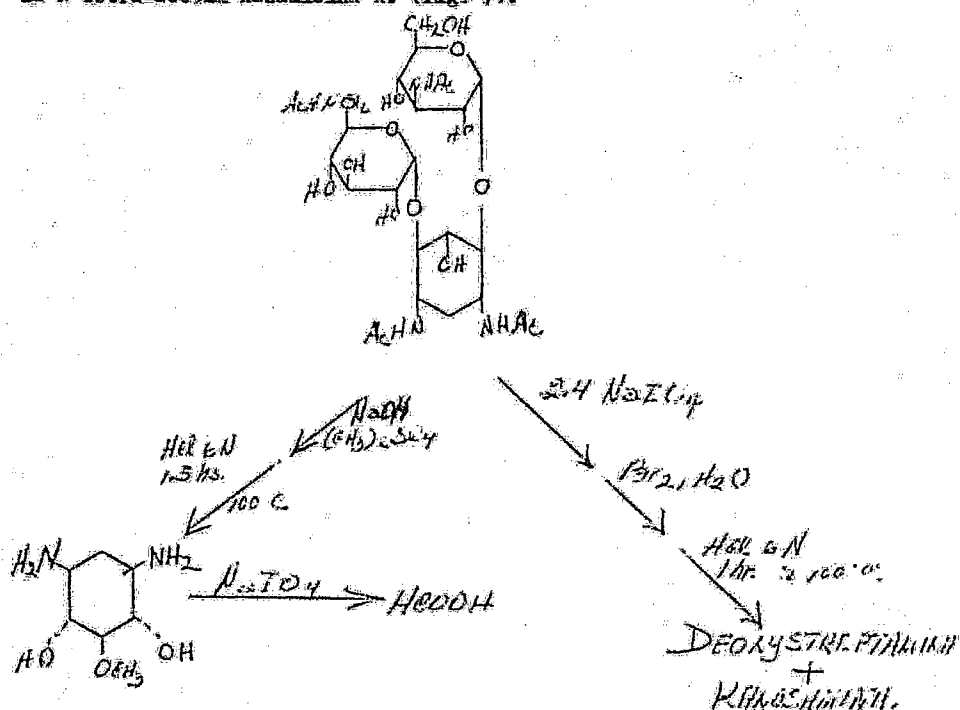


Fig: 7

Han sido reportadas dos Kanamicinas adicionales, de estas la Kanami-
cina C, (fig: 8) es la más parecida a la Kanamicina A, principalmente

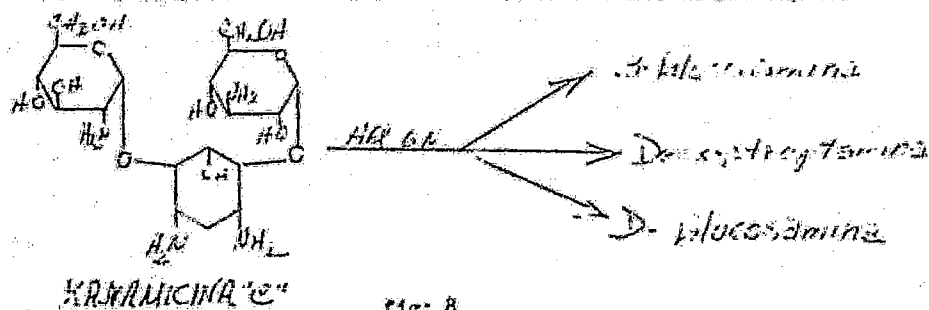


Fig: 8

en sus productos de la hidrólisis que son Deoxystreptamina, Kanosamina y una Monoaminohexosa, la última fracción, se ha demostrado que es una D-Glucosamina.

La similitud Biogenética de las Kanamicinas A y C, también sugieren la esteoquímica absoluta de la primera (mostrada en figuras 1 y 4). Así como también de la Kanamicina B (fig: 9), se ha demostrado que -- contiene Kanosamina, Deoxystreptamina y una Diaminohexosa.

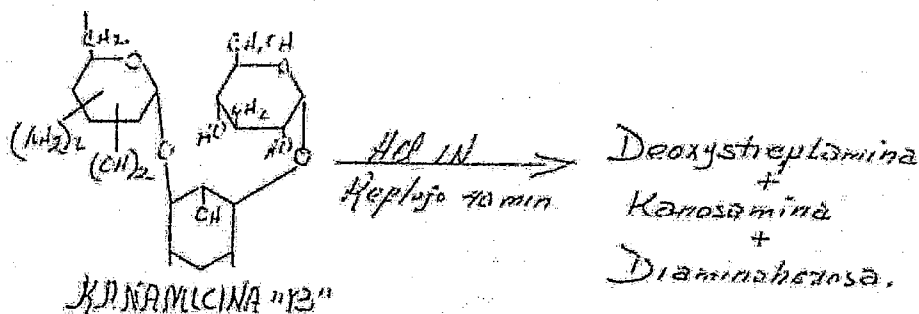


fig: 9

Estabilidad de la Kanamicina^(B) y de algunas de sus Formas Farmacéuticas.

La solubilidad de la Kanamicina en agua a 25°C varía con el pH, siendo más soluble a un pH más ácido. Las soluciones de este antibiótico, cuando son sometidas al Autoclave en recipientes cerrados por 30 minutos, a 15 libras de presión y a 120°, muestran una pérdida máxima en potencia de 5%, indicando que las soluciones acuosas no son afectadas por hidrólisis ácidas o alcalinas.

Hay de cualquier manera un incremento en el color de las soluciones, hasta llegar a un color ámbar o café. Dicho oscurecimiento es debido a la oxidación por el aire, pero este cambio de color no tiene efecto

en la potencia. Se requiere la presencia de antioxidantes, para prevenir la formación de color con el tiempo y la temperatura.

El polvo de Sulfato de Kanamicina y el polvo de Kanamicina Base, son extremadamente estables Química y Térmicamente. Las pruebas de estabilidad en el polvo de Kanamicina Base, indican un promedio de pérdida de 0% después de conservarlo por cuatro meses a 56°C; 2.7% después de cuatro meses a 37°C y 0% después de cuatro meses a 25°C.

Cuando el polvo es sometido a la Autoclave ya sea en recipientes cerrados ó abiertos, por una hora a 15 lb. de presión y a 120°C, hay 0% de pérdida en potencia, aunque el polvo cambia a un color moreno. Este polvo sometido a presión por un período más a 56, 37 y 25°C, presenta una pérdida máxima en potencia de 10%, después de cuatro meses.

Ensayos de estabilidad, en el polvo de Sulfato de Kanamicina, señalaron un promedio de pérdida de 4.5% después de cuatro meses a 56°C; 0.23% después de cuatro meses a 45°C; 6.7% después de seis meses a 37°C y 3.8% después de seis meses a 25°C.

Al someter en Autoclave al Sulfato por una hora a 15 lb. de presión y 120°C, en recipientes abiertos, la pérdida es de 0.07%. Este tratamiento transforma el color a un tostado claro.

El envejecimiento del polvo sometido a presión en recipiente abierto, muestra además una pérdida promedio de 6.4% después de cuatro meses a 56°C; 1.4% después de cuatro meses a 45°C; 4.3% después de seis meses a 37°C y 2.9% después de seis meses a 25°C.

Las soluciones Acuosa Intramusculares del Sulfato de Kanamicina, se han hecho con concentraciones de 87 a 638 mg de actividad

de Kanamicina Base por ml, con un pH de 2.6 a 7.9 y se le han agregado preservativos, antioxidantes y soluciones amortiguadoras.

Cuando son sometidas a la Autoclave por una hora a 15 lb. de presión y a 120°C, esas soluciones tienen una pérdida promedio de 2.8%. Dichas soluciones se oscurecen ligeramente al se someten 15 minutos al Autoclave, después de 30 el color es ámbar y finalmente, después de una hora de tratamiento el color pasa a ámbar oscuro.

Las Cápsulas de gelatina, conteniendo Sulfato de Kanamicina junto con excipientes tales como Lactosa y Estearato de Magnesio, -- muestran una pérdida promedio de 0%, después de cuatro meses a 56, 45, 37 y 25°C.

Acción Farmacológica ⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁹⁾

In vitro, la Kanamicina es activa contra microorganismos Gram +, Gram - y Mycobacterias.

Su actividad es paralela a la Neomicina, por tener el mismo espectro antibacterial, absorción, destino, excreción, toxicidad y usos.

Se hicieron estudios Farmacológicos, en animales de laboratorio, encontrándose una toxicidad relativamente baja.

Se demostró que el Sulfato de Kanamicina no es tóxico en perros, cuando se les administra intramuscularmente 100 mg/Kg, al día durante nueve meses y oralmente 1000 mg/Kg en un mes. Dicho Sulfato es mucho menos Nefrotóxico en ellos, que el Sulfato de Neomicina.

Tampoco fué tóxico relativamente, en gatos al aplicarles -- subcutáneamente 100 mg/Kg por ocho meses.

Esta sal de Kanamicina, es bien absorbida cuando se administra intramuscular o subcutáneamente. Los picos máximos de concentra--

ción de dosis intramusculares se encontraron en el suero (humano), en un tiempo aproximado de una hora y varía aunque no en forma exacta con la dosis.

No pueden establecerse regímenes de dosis exactas, pero la rápida baja de los niveles sanguíneos, indican que las dosis intramusculares deben de ser dadas a intervalos de 6 horas, para poder mantener adecuadamente los niveles terapéuticos (excepto para dosis de 1.0 g que será dada a intervalos de 8 a 12 horas).

En forma oral, la Kanamicina se absorbe muy poco.

Este antibiótico se excreta rápidamente en la orina, después de administración intravenosa o intramuscular. Aproximadamente de 50 a 80% o más, de la dosis administrada intramuscularmente, se encuentra en la orina de 24 horas.

Los efectos tóxicos principales son en el Riñón y en el Octavo Nervio Craneal.

Dosis (2)(5)(9)

Es efectivo en Estafilococcias, Gonorrhea, infecciones severas de Antrax, infecciones agudas del aparato Respiratorio, especialmente en Tuberculosis, infecciones agudas y crónicas del Tracto Urinario, Pielonefritis, Cistitis, preparación Preoperatoria en la cirugía del Colon en tratamiento del Coma Hepático, Síndrome Enterorrenal (combinando las vías parenteral y oral), superinfección de la Amibiasis, Furunculosis y desinfección de los portadores de gérmenes.

Se considera también que el Sulfato de Kanamicina, conviene para el tratamiento tópico de afecciones microbianas en la boca. (10)

Dosis y Modo de Empleo (9)(18)

Por vía Intramuscular, en adultos 1g por día y en niños 15 mg/kg al -

(20)

día en dos ó tres dosis. Vía Endovenosa por Venoclisis, en ambas ca-
sas de 15 á 30 mg/Kg al día. Por vía Oral, a los adultos 2g. al día y
50 mg/Kg de peso, al día para los niños.

Tópicamente, se usan 2.5 mg por ml de solución. Esta solución se pre-
para diluyendo el contenido de un frasco de 0.5g en 200 ml de suero -
fisiológico.

También se puede administrar en forma de Aerosol, diluyendo
0.5g en 5 ml de suero fisiológico, para una aplicación.

Presentaciones. (1)(9)(18)

Se presenta en dos Formas Farmacéuticas, en Inyectables y -
en Cápsulas, de los primeros hay frascos con 0.5g en 2ml y 1g en 3ml.
De las segundas, se encuentran en frascos con 10, 20 y 100 cápsulas.

III.- PARTE EXPERIMENTAL.

PARTE EXPERIMENTAL.

La necesidad de aplicar un método Físico-Químico para la determinación del Sulfato de Kanamicina, condujo al estudio comparativo de dos métodos Químicos con el Microbiológico.

Los métodos Químicos que se aplicaron fueron:

- a).- Método del Orcinol.
- b).- Método del Furfural.

I.- Método Microbiológico.-

Fundamento.-

Este método es el recomendado en las Farmacopeas y libros de control de Medicamentos, para la valoración de Antibióticos y se basa en la medida de la inhibición producida por una cantidad conocida de antibiótico en un cultivo del microorganismo de prueba, siendo en este caso el Bacillus subtilis (ATCC-6633).

a).- Material y Reactivos.-

Cilindros.- (Tazas).

Usar cilindros de acero inoxidable con un diámetro exterior de 8mm. ($\pm 0.1mm$), un diámetro interior de 6mm. ($\pm 0.1mm$) y una longitud de 10mm. ($\pm 0.1mm$).

Cajas.-

Usar cajas de Petri de fondo plano, con un tamaño de 20mm por 100mm. La cubierta puede ser de acero inoxidable o de porcelana.

Medio de Cultivo.-

El cultivo de prueba se mantiene en Agar nutritivo. El medio No. 5 para Antibióticos, se usa como medio de ensayo.

La fórmula del medio No. 5, es la siguiente:

Poptona	6.0 g.
Extracto de Levadura	3.0 g.

Extracto de Carne 1.5 g.
 Agar 15.0 g.
 Agua Destilada c.b.p. 1000.0 ml.
 pH, 7.8 a 8.0 después de esterilización.

Solución Amortiguadora.-

Solución A).- Monofosfato de Potasio 68.0 g.
 Agua Destilada c.b.p. 1000.0 ml.
 Solución B).- Fosfato Acido de Sodio 71.0 g.
 Agua Destilada c.b.p. 1000.0 ml.

En un matraz aforado de 1000.0 ml, colocar 5ml de solución A y 95 ml. de solución B, aforar a la marca con agua destilada para obtener una solución Amortiguadora con pH 8.0.

Preparación de la Sol. Tipo.-

Como Tipo, se usó una muestra de Sulfato de Kanamicina purificada, -- con potencia de 785 mcg/mg de Kanamicina Base. Puede conservarse a -- temperatura ambiente en frascos muy bien tapados, los cuáles a su vez son conservados en recipientes que contengan un desecante como Sílica gel con indicador.

Disolver una muestra Tipo en agua, para obtener una concentración de 1000 mcg/ml. Conservar esta solución almacenada a 5°C durante no más de una semana.

Preparación de la Muestra.-

La muestra se diluye para obtener aproximadamente 2 mcg/ml, con solución Amortiguadora de Fosfatos de pH 8.0.

Preparación del Microorganismo de Prueba.-

El microorganismo de prueba es el Bacillus subtilis (ATCC-6633). Se prepara una suspensión de esporas, haciendo que el microorganismo se

desarrolle por una semana a 37°C. en botellas de Roux con el medio de cultivo No. 1, que contiene:

Peptona	6.0g
Digerido Pancreático de Caseína	4.0g.
Extracto de Levadura	3.0g.
Extracto de Carne	1.5g.
Dextrosa	1.0g.
Agar	15.0g
Agua Destilada c.b.p.	1000.0al.

pH 6.5 á 6.6 después de esterilización.

Las esporas se suspenden en agua destilada estéril y se calientan durante 30 minutos a 65°C. La suspensión de esporas se lava tres veces con agua destilada estéril, se calienta otra vez por 30 minutos a 65° y se resuspenden en agua destilada estéril.

Por medio de pruebas apropiadas se determina la cantidad de esporas en suspensión que deben añadirse a 100 ml. de medio para antibióticos No. 5. Dicha suspensión es conservada en refrigeración en buen estado cuando menos durante un año.

Preparación de las Cajas.-

La cantidad óptima de suspensión de esporas se agrega al medio para antibióticos No. 5 que ha sido esterilizado en Autoclavé y fundido.

Este medio debe de ser enfriado de 50 a 52°C antes de la adición de esporas, se mezcla perfectamente y 15 ml. se ponen con técnica aséptica en cada caja. Las cajas se cubren con tapaderas de acero inoxidable ó porcelana. Cuando se ha endurecido el medio, se colocan 6 cilindros sobre la superficie, de modo que sea a intervalos de 60°, en un círculo de 2.8 cm. de radio.

Curva Patrón.-

Las soluciones conteniendo 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 5.0 y 10.0 mcg de Kanamicina Base por ml, se preparan diariamente por dilución de partes alícuotas de la solución tipo (1000.0 mcg/ml) con solución amortiguadora de Fosfatos de pH 8.0. Un total de 27 cajas es usado en la preparación de la curva Patrón, se utilizan 3 placas para cada dilución excepto la de 2.0 mcg/ml, ésta última es el punto de Referencia y se incluye sobre cada placa, se llenan tres cilindros con la dilución que se toma como punto de Referencia y los otros tres con la concentración de la muestra de cada uno de los otros puntos para la curva. Serán 45 determinaciones del punto de Referencia y 9 determinaciones para cada uno de los otros puntos para la curva.

Se incuban las placas por 16 a 18 horas a 37°C y al cabo de dicho tiempo, se mide el diámetro de cada zona de inhibición.

Promediar los diámetros de la concentración de 2.0 mcg/ml de cada caja, luego promediar los resultados de las tres y finalmente calcular los promedios obtenidos en las cinco diluciones. El promedio de las 45 lecturas de la concentración de 2.0 mcg/ml, es el punto de Corrección para la curva.

Corregir el valor promedio obtenido para cada concentración en la forma siguiente: si el valor del punto de Referencia es mayor que el valor obtenido de la concentración en cada caja de 2.0 mcg/ml, se saca la diferencia entre ellos y el resultado se le suma al valor de la concentración de la dilución, quedando así corregido cada punto para la curva.

Los valores corregidos se trazan en papel semilogarítmico - de dos ciclos, marcando en las abscisas el diámetro de Inhibición y -

en las ordenadas la concentración en mcg/ml.

Debido a que la solución Tipo no se debe usar después de una semana de preparada, se sacaron dos curvas, en las cuáles se compararon los valores obtenidos. (Ver gráficas No. 1 y No. 2).

Los datos son los siguientes:

Curva No. 1.-

Concentraciones en mcg/ml.	mm. de Inhibición.
0.5	15.83
1.0	17.60
2.0	20.10
4.0	21.80
5.0	22.60
10.0	25.00

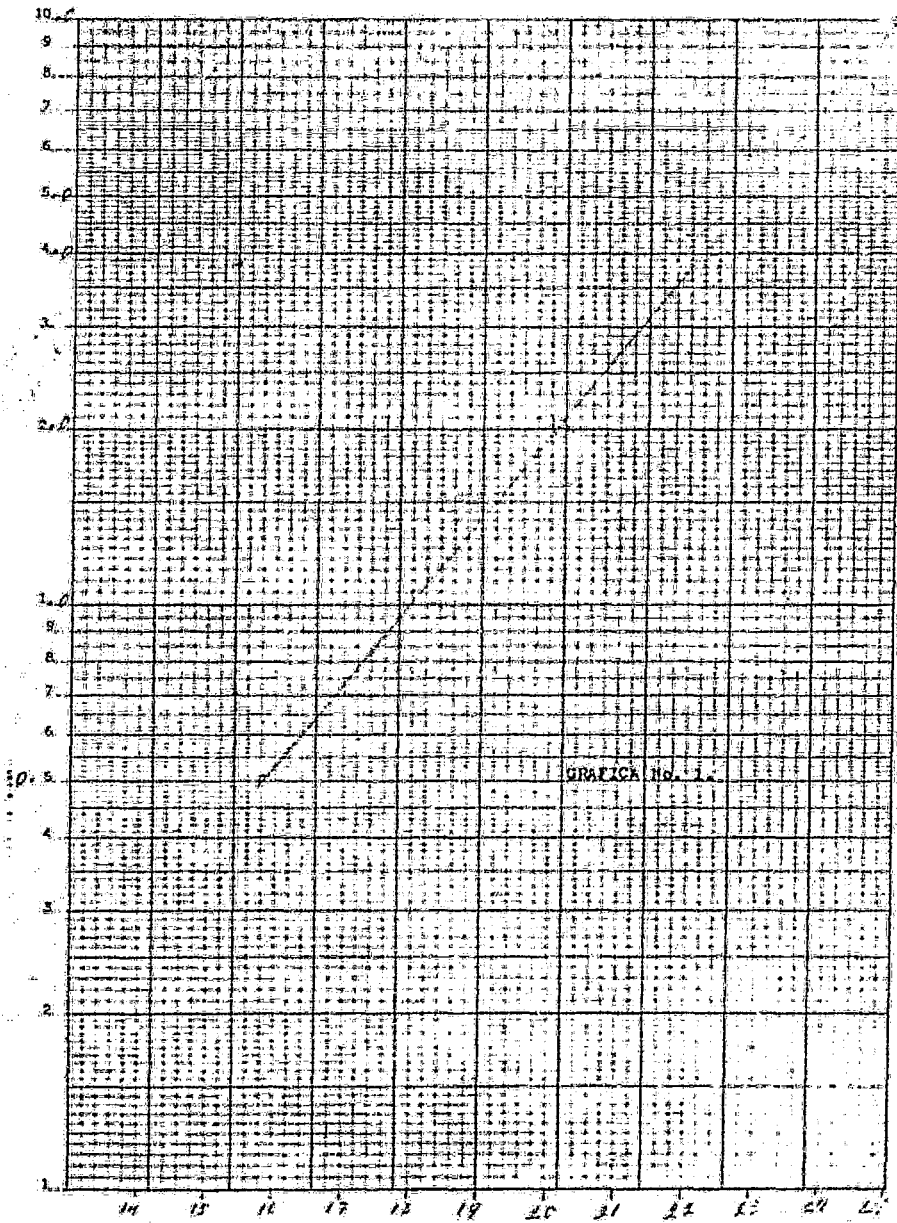
Curva No. 2.-

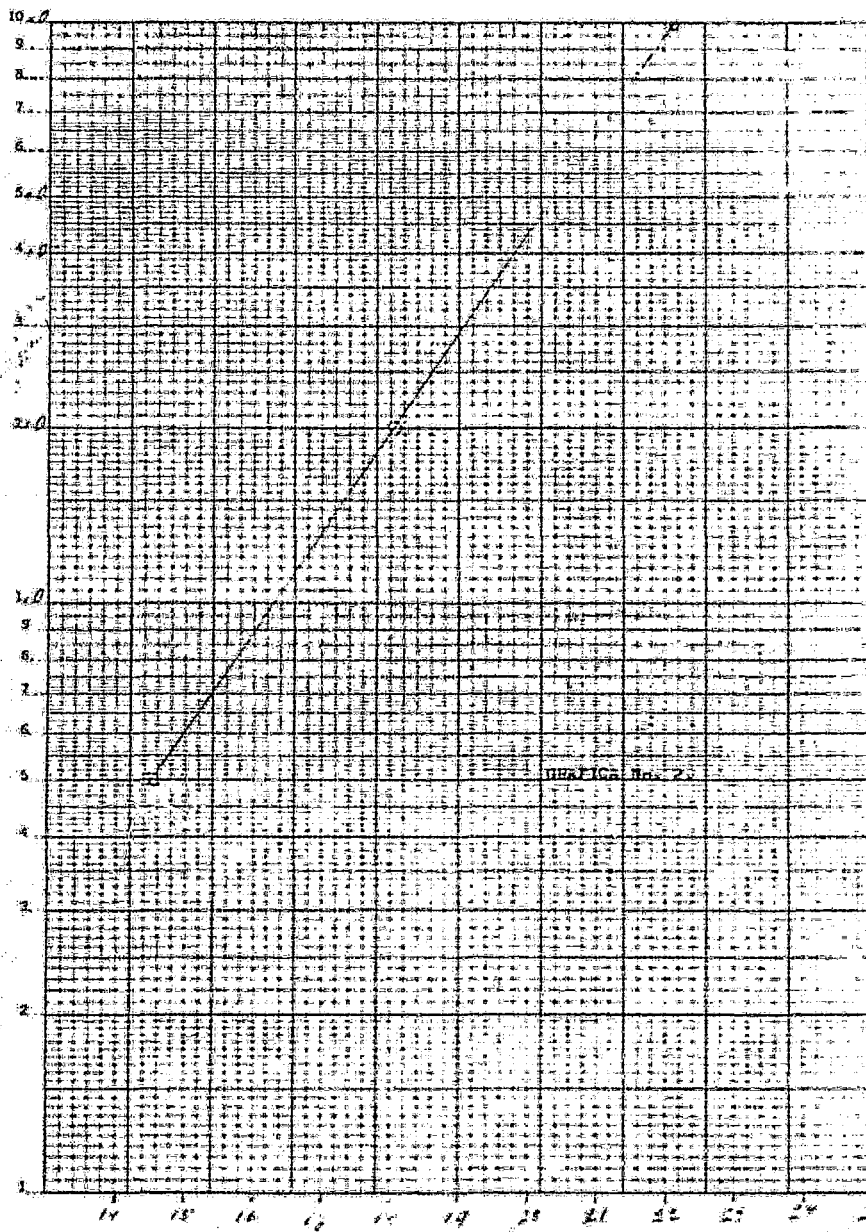
Concentraciones en mcg/ml.	mm. de Inhibición.
0.5	14.33
1.0	16.57
2.0	18.13
4.0	19.65
5.0	19.90
10.0	22.03

Ensayo de Muestra.-

Se usan 1 ó más (usualmente tres) placas por cada muestra. Llenar tres cilindros sobre cada caja con la solución Tipo de 2.0 mcg/ml y tres cilindros con la muestra de 2.0 mcg/ml, alternando muestra y Tipo.

Incúbase las cajas durante 16 a 18 horas a 37°C y se mide -





el diámetro de la zona de inhibición.

Promédiese las lecturas de la zona para cada muestra y el Tipo. Si el promedio de la medida de la zona de muestra es menor que el valor obtenido del Tipo, restar la diferencia entre ellos de el valor de 2.0 mcg/ml de la curva. Si el promedio es mayor que el del Tipo, se le suma la diferencia al de 2.0 mcg/ml. Los resultados se comparan en la curva para calcular el porcentaje de pureza.

II.- Método del Orcinol.-

Fundamento.-

Este método se basa en el desarrollo de una coloración verde, obtenida con solución de Cloruro Férrico en Ac. Clorhídrico concentrado y solución alcohólica de Orcinol. Dicha reacción puede ser debida a la reacción entre los reactivos y los productos de degradación de la Kanamicina (Glucosaminas).

a).- Material.-

Matraces volumétricos de 100 ml.

Microbureta de 5ml.

Pipetas.

b).- Aparato.-

Espectrofotómetro Beckman DK-2.

c).- Reactivos.-

1).- Solución de Cloruro Férrico al 0.06% en Ac. Clorhídrico conc.

2).- Solución de Orcinol al 20% en alcohol.

d).- Técnica.-

Se pesa una cantidad de Sulfato de Kanamicina y se disuelve en agua a tener una concentración de 1000.0 mcg/ml de Kanamicina Base. Para la curva, se hicieron varios intentos a distintas concentracio-

nes para obtener los puntos de ésta, viéndose que solo a 32.5; 35.0 y 37.5 mcg/ml se obtuvieron resultados que se pudieron trazar en papel milimétrico, obteniéndose una recta.

Se hicieron tres diluciones, tomando de la concentración de 1000.0 -- mcg/ml, para el primer punto 3.25 ml; para el segundo 3.5ml y para el tercero 3.75 ml. A cada una de éstas soluciones que deben de estar en matraces volumétricos de 100 ml, se les agrega 10 ml de la solución 1 y 0.8 ml de la solución 2, posteriormente se colocan los matraces en un baño de agua hirviendo por 25 minutos. Al cabo de éste tiempo se enfrían al chorro del agua con agitación y se aforan. Se prepara un blanco de reactivos con 2 ml de agua y se trata de la misma forma que las diluciones anteriores.

Se leen a 675 m , en un Espectrofotómetro Beckman DK-2. ---

(Ver gráficas Nos. 3 y 3a.)

Los datos para la curva No. 3 son:

Concentración en mcg/ml.	Transmitancia	Absorbancia.
32.5	38.7	0.4123
35.0	35.0	0.4559
37.5	32.7	0.4854

Para trabajar los Medicamentos se prepara una solución que contenga - 1000.0 mcg/ml de Kanamicina Base, se toman 3.5 ml y se sigue el mismo método que para la curva, haciéndose también su blanco, para posteriormente leer en el aparato. Las lecturas se comparan en la curva y se calcula el porcentaje de pureza.

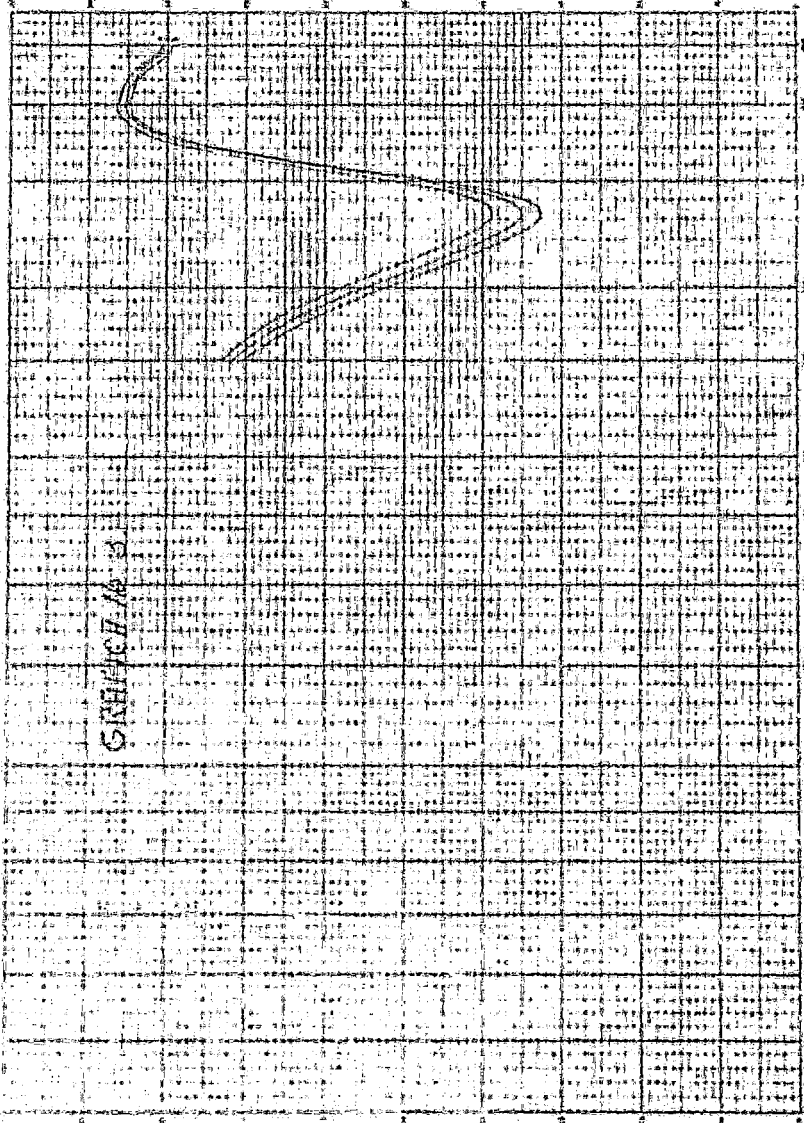
III.- Método del Furfural.-

Fundamento.-

Se basa éste método en que al tratar a la Kanamicina con ác. Sulfúrico

Backman' TX 2 CHART

5174-10-1



2015年12月15日

Notes: All values are in percentages unless otherwise indicated.

[illegible]

53

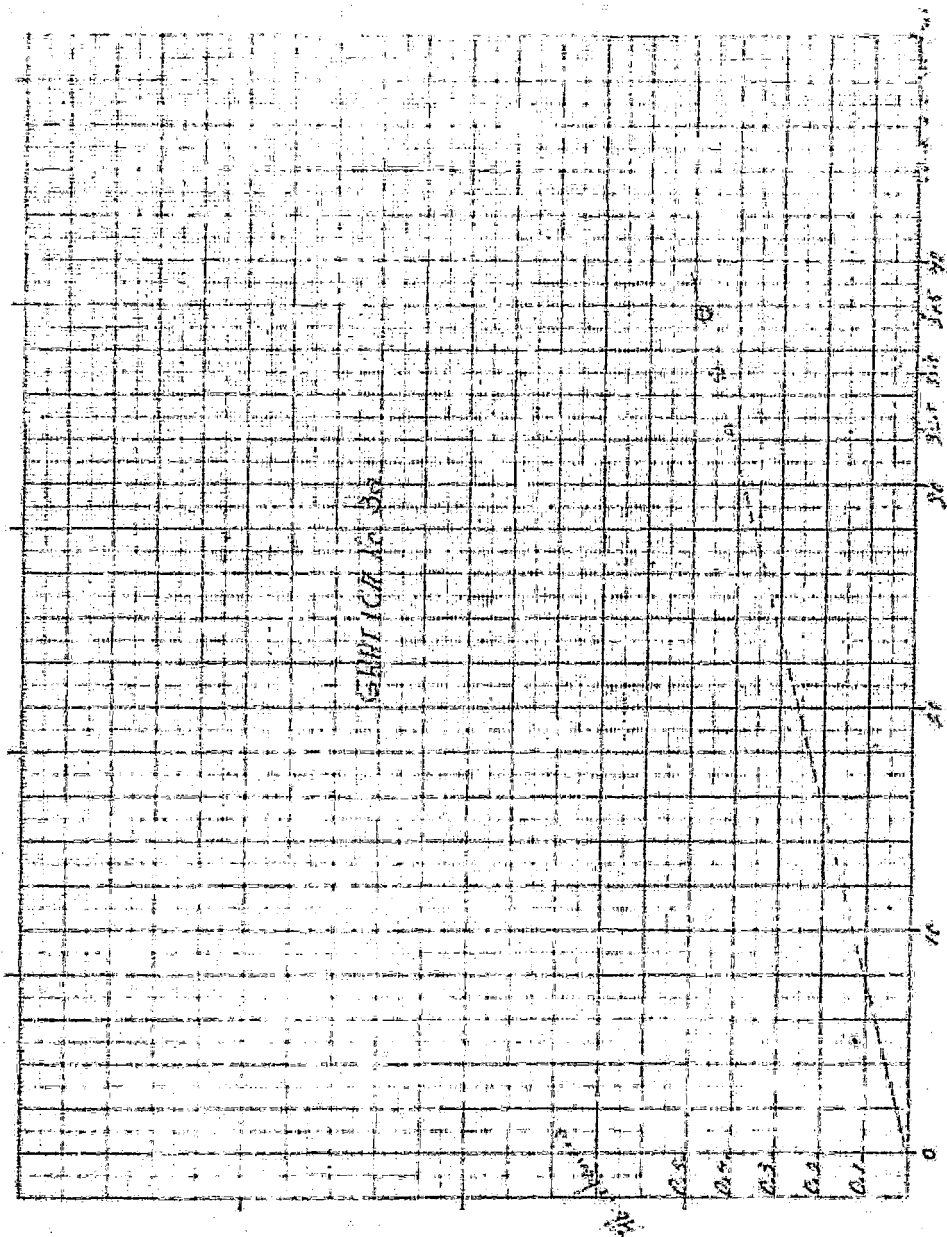
2000

• *and the*

Abstract

١٩٨٠

陈仁德



co concentrado a una temperatura de 96 a 100°C, se produce un compuesto con un espectro similar al del Furfural, que tiene absorción en el Ultra Violeta.

a).- Material.-

Pipetas volumétricas de 5 ml.

Tubos de 2.5 cm. de diámetro por 16.5 cm. de largo. 6

Matraces aforados de 50ml.

Baño María.

b).- Reactivos.-

Ac. Sulfúrico concentrado Grado Reactivo.

c).- Técnica.-

Para la curva, se prepararon tres soluciones con concentraciones de 400, 450 y 500 mcg/ml de Kanamicina Base.

Tomar con pipeta 1, 2 y 3 ml de cada solución y ponerlos en tres tubos de ensayo de 30 ml. Agregar agua destilada a cada uno de los tubos para tener un total de 6 ml. Colocar los tubos de ensayo en un baño de hielo por 10 minutos. Adicionar 4 ml de Ac. Sulfúrico concentrado G.R. en cada tubo y colocarles a cada uno una pipeta volumétrica de 5ml para insuflar aire através de ella hacia el interior de la mezcla, hasta asegurarse de que ésta ha sido perfecta. Dejar reposar en hielo otros 10 minutos. Estos tubos constituyen el tiempo A.

Transferir 5 ml de cada uno de los tubos del tiempo A, a tubos de ensayo 6 matraces de 50ml (para facilitar la manipulación). Cubrir cada uno de éstos con una hoja de aluminio de 1/2 pulgada cuadrada y ponerlos en baño de agua hirviendo durante una hora. Estos tubos son el tiempo B.

Mientras que los del tiempo B hierven, leer la densidad óptica de los tubos del tiempo A contra agua (con ác. Sulfúrico y con enfriamiento) a 280 $m\mu$ en un Espectrofotómetro Beckman DK-2, con celdas de 1 cm. Después de la hora quitar los tubos del tiempo B, del baño de agua y enfriar a la temperatura ambiente. Cubrir la boca de cada tubo con -- papel glassine y agitarlos hasta mezclar perfectamente.

Leer la Densidad Óptica de éstos tubos igual que los primeros.

Se calculó la Densidad Óptica para cada una de las muestras restando la D. Óptica encontrada para los tubos correspondientes al tiempo B, luego se promediaron los valores obtenidos, dando así los siguientes resultados.

Curva No. 4.-

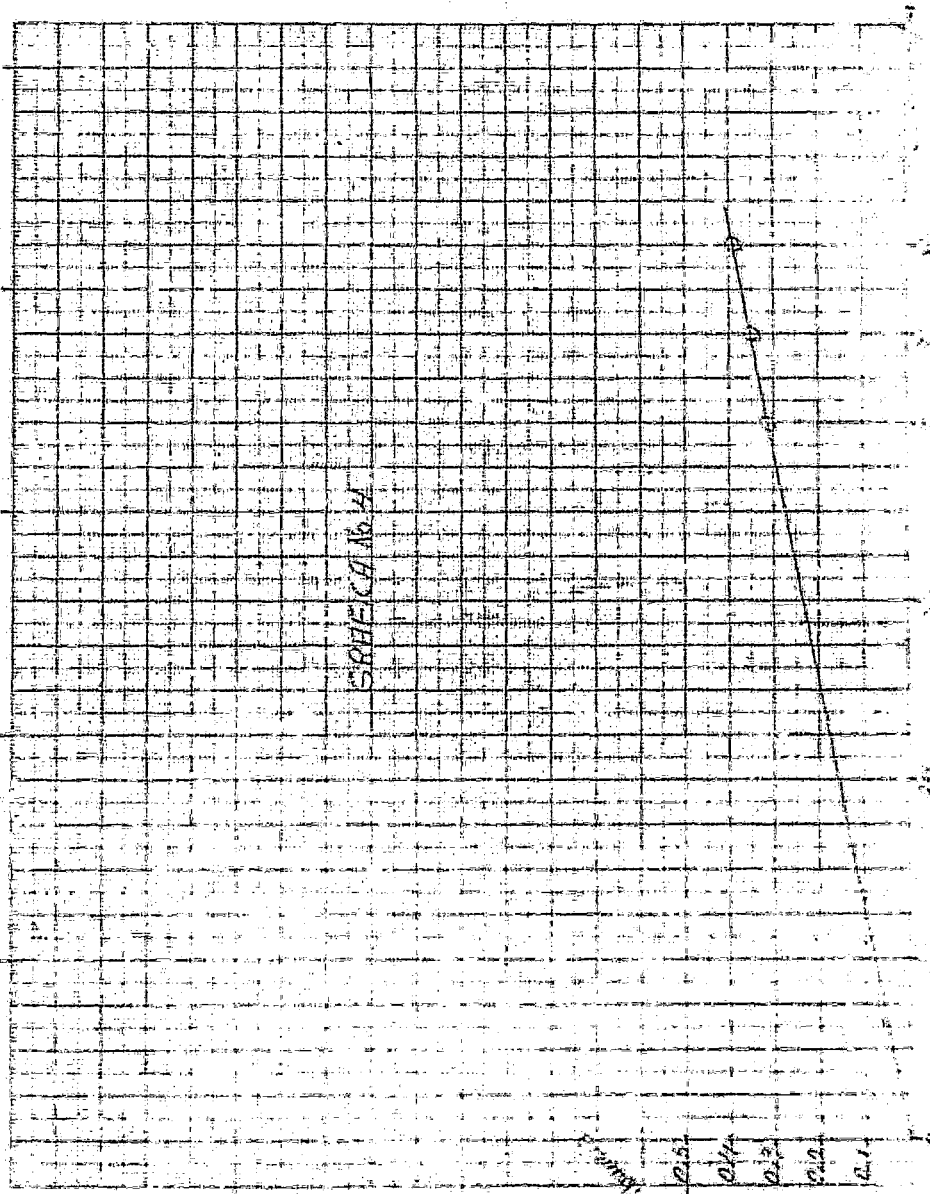
Concentración en mcg/ml.	Absorbancia.
400	0.3169
450	0.3500
500	0.3969

Para trabajar la muestra (Ver gráfica No. 4) se prepara una solución con una concentración de 450 mcg/ml de Kanamicina Base. Se toman de ahí como se dijo anteriormente para la curva 1, 2, y 3 ml. y se sigue la misma técnica.

El valor obtenido se lee en la curva para calcular el porciento de pureza.

Plan de Trabajo.-

Para llevar a cabo las determinaciones por los métodos indicados, se procuró usar siempre muestras representativas, a partir de las cuáles fueron hechas todas ellas. Para trabajar con la Sustancia Radi--



SPECIFIC

0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1.0
1.1
1.2
1.3
1.4
1.5
1.6
1.7
1.8
1.9
2.0
2.1
2.2
2.3
2.4
2.5
2.6
2.7
2.8
2.9
3.0
3.1
3.2
3.3
3.4
3.5
3.6
3.7
3.8
3.9
4.0
4.1
4.2
4.3
4.4
4.5
4.6
4.7
4.8
4.9
5.0
5.1
5.2
5.3
5.4
5.5
5.6
5.7
5.8
5.9
6.0
6.1
6.2
6.3
6.4
6.5
6.6
6.7
6.8
6.9
7.0
7.1
7.2
7.3
7.4
7.5
7.6
7.7
7.8
7.9
8.0
8.1
8.2
8.3
8.4
8.5
8.6
8.7
8.8
8.9
9.0
9.1
9.2
9.3
9.4
9.5
9.6
9.7
9.8
9.9
1.0

cial, primero se le determinó el punto de fusión y se vio que se descompone a 269°C, se le determinó la humedad, encontrándose en una proporción de 0.13%.

Como esta sustancia tiene una potencia conocida que es de 785 mcg/mg de Kanamicina Base, se comprobó con un Standard U.S.P. y se obtuvo un 100% de pureza.

Por dichas razones, la Sustancia Medicinal se utilizó después como -- Tipo, para determinar el porciento del contenido en pureza de dos Formas Farmacéuticas que son:

a).- Inyectables.

b).- Cápsulas.

En las dos Formas Farmacéuticas indicadas se obtuvieron muestras representativas, mezclando en un solo recipiente (en cada caso) y homogenizando perfectamente.

Los Inyectables se trabajaron por los tres métodos, haciendo 20 determinaciones de cada uno. En el caso de la Sustancia Medicinal y Cápsulas se hicieron 10 determinaciones por cada método.

Las Cápsulas se trabajaron con dos excipientes diferentes, por los tres métodos en el orden siguiente: primero el método Microbiológico; segundo, método del Orcinol y tercero, método del Furfural.

Una vez realizadas las determinaciones, se les calculó el promedio; las Desviaciones Positiva y Negativa; la Desviación Media Simple; el Porcentaje de Variación obtenido; la Desviación Standard y el Coeficiente de Variación.

Los datos anteriores son calculados a partir de los porcentajes obtenidos y se tabularon en cuadros que se mencionan en el siguiente capítulo. El objeto de esto es comprobar por cuál método se obtienen --

resultados reproducibles y así observar el método que presenta la mínima variación.

Fórmulas de las Formas Farmacéuticas.-

Fórmula No. 1.-

Sulfato de Kanamicina equivalente a 1.0 g. de Kanamicina Base.

Vehículo y conservadores c.b.p. 3.0 ml
(INJECTABLE)

Fórmula No. 2.-

Sulfato de Kanamicina equivalente a 0.250 g. de Kanamicina Base.

Excipiente. (Lactosa).

(CAPSULAS).

Fórmula No. 3.-

Sulfato de Kanamicina equivalente a 0.250 g. de Kanamicina Base.

Excipiente. (Almidón).

(CAPSULAS).

2

IV.- RESULTADOS.

CUADRO No. I.

Sustancia Medicinal.

Sulfato de Kanamicina.

Porcentaje Teórico del Sulfato de Kanamicina: 100.0%.

PORCENTAJES ENCONTRADOS.

METODO No. II.-

1.- 100.00 %

2.- 100.00 "

3.- 100.00 "

4.- 100.00 "

5.- 100.00 "

6.- 100.00 "

7.- 100.00 "

8.- 100.00 "

9.- 100.00 "

10.- 100.00 "

PROMEDIO:

M= 100.00 %

DESVIACION POSITIVA Y NEGATIVA:

 $\sum D^+ = 0.0$ $\sum D^- = 0.0$ DESVIACION MEDIA SIMPLE: $\frac{\sum D^- + \sum D^+}{n}$

0.0

n= No. de determinaciones.

PORCENTAJE DE VARIACION: $\frac{(V-v)}{M} \cdot 100$

0.0

V= Valor más alto.

v= Valor más bajo.

DESVIACION STANDARD: $\sqrt{\frac{\sum d^2}{(n-1)}} = 0$

0.0

 d^2 = Suma de las Desviaciones al cuadrado.COEFICIENTE DE VARIACION: $\frac{0 \cdot 100}{M}$

0.0

CUADRO No. II.

Fórmula No.1.

Porcentaje Teórico de Sulfato de Kanamicina: 100.00%.

PORCENTAJES ENCONTRADOS.

METODO No. I.	METODO No. II.	METODO No. III.
1.- 102.00 %	102.40 %	96.34 %
2.- 96.00 "	100.00 "	104.45 "
3.- 101.50 "	101.30 "	99.74 "
4.- 96.00 "	100.00 "	94.82 "
5.- 103.50 "	103.31 "	105.57 "
6.- 102.00 "	100.50 "	99.37 "
7.- 100.75 "	100.00 "	106.05 "
8.- 100.50 "	102.74 "	102.74 "
9.- 98.50 "	101.90 "	99.37 "
10- 98.50 "	101.35 "	107.02 "
11.- 99.00 "	101.35 "	106.48 "
12- 96.00 "	100.74 "	98.94 "
13- 97.00 "	100.50 "	102.42 "
14- 100.25 "	103.31 "	111.28 "
15- 100.00 "	101.62 "	107.65 "
16- 102.00 "	101.30 "	104.57 "
17- 102.00 "	102.74 "	105.82 "
18- 99.00 "	100.50 "	106.97 "
19- 98.50 "	101.62 "	112.97 "
20- 100.50 "	102.74 "	102.74 "
PROMEDIO:		
M= 99.67 %	101.49 %	103.76 "
DESVIACION POSITIVA Y NEGATIVA:		
$\Sigma d^+ = 18.63$	8.97	37.47
$\Sigma d^- = 15.53$	8.85	37.36
DESVIACION MEDIA SIMPLE $\frac{\Sigma d^+ + \Sigma d^-}{n}$		
1.70	0.89	3.74
PORCENTAJE DE VARIACION: $\frac{(V-v)100}{H}$		
7.52	3.26	17.49
DESVIACION STANDARD: $\sqrt{\frac{\Sigma d^2}{(n-1)}}$		
2.08	1.09	4.67
COEFICIENTE DE VARIACION: $\frac{100}{h}$		
2.08 %	1.07 %	4.5 %

CUADRO No. III.

Fórmula No. 2.

Porcentaje Teórico de Sulfato de Kanamicina: 100.00 %.

PORCENTAJES ENCONTRADOS.

METODO No. I.	METODO No. II.	METODO No. III.
1.- 99.70 %	-	128.90 %
2.- 98.70 "	-	128.30 "
3.- 100.00 "	-	127.25 "
4.- 98.50 "	-	127.25 "
5.- 100.00 "	-	136.00 "
6.- 100.00 "	-	132.00 "
7.- 99.70 "	-	131.00 "
8.- 99.70 "	-	132.00 "
9.- 97.50 "	-	127.25 "
10.- 98.20 "	-	135.00 "
PROMEDIO:		
M= 99.18 %	-	130.53 %
DESVIACION POSITIVA Y NEGATIVA:		
$\sum D^+ = 4.02$	-	13.35
$\sum d^- = 4.02$	-	13.30
DESVIACION MEDIA SIMPLE: $\frac{\sum d^- + \sum D^+}{n}$		
0.80	-	2.66
PORCENTAJE DE VARIACION: $\frac{(v-v)}{H} 100$		
2.72	-	6.70
DESVIACION STANDARD: $\sqrt{\frac{\sum d^2}{(n-1)}}$		
0.94	-	3.19
COEFICIENTE DE VARIACION: $\frac{C}{H} 100$		
0.95 %	-	2.44 %

CUADRO No. IV.

Fórmula No. 3.

Porcentaje Teórico de Sulfato de Kanamicina: 100.00 %.

PORCENTAJES ENCONTRADOS.

METODO No. I.	METODO No. II.	METODO No. III.
1.- 99.90 %	87.27 %	99.37 %
2.- 98.20 "	87.27 "	101.25 "
3.- 101.00 "	87.27 "	104.00 "
4.- 98.20 "	87.27 "	96.08 "
5.- 100.00 "	87.27 "	96.08 "
6.- 100.00 "	87.27 "	107.61 "
7.- 99.50 "	86.09 "	107.91 "
8.- 99.50 "	86.09 "	107.91 "
9.- 97.30 "	88.46 "	96.08 "
10.- 100.00 "	86.09 "	99.37 "
PROMEDIO:		
M= 99.36 %	87.03 %	101.56 %
DESVIACION POSITIVA Y NEGATIVA:		
$\Sigma D^+ = 4.38$	2.87	21.19
$\Sigma d^- = 4.38$	2.82	18.94
DESVIACION MEDIA SIMPLE: $\frac{\Sigma d^- + \Sigma D^+}{n}$		
0.87	0.56	4.01
PORCENTAJE DE VARIACION: $\frac{(V-v)100}{M}$		
3.72	2.72	11.64
DESVIACION STANDARD: $\sqrt{\frac{\Sigma d^2}{(n-1)}} = \sigma$		
1.11	0.60	4.92
COEFICIENTE DE VARIACION: $\frac{\sigma}{M} \cdot 100$		
1.11 %	0.68 %	4.84 %

V.- CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

Método No. I.-

Discusión.-

Al trabajar con el método No. I, en Sustancia Medicinal, como en los Medicamentos (Inyectables y Cápsulas), se vió que el tiempo para realizarlo era muy prolongado, además que debe de tenerse numeroso material adecuado y sumo cuidado, en las manipulaciones.

Al Tabular los resultados se observó que el método tiene un porcentaje de error más elevado que el método No. II, pero menor que el No. III, en las dos Formas Farmacéuticas estudiadas.

Método No. II.-

Discusión.-

El método No. II, es rápido en su técnica. Para que las determinaciones se hagan correctamente, debe tenerse en cuenta que todos los reactivos necesarios para trabajar, sean preparados el mismo día en que se va a ensayar la muestra. Estos deben ser químicamente puros por ser la reacción aplicable a éste método, muy sensible a cualquier impureza.

En éste método se observó que no puede aplicarse a las Cápsulas que contengan Lactosa como excipiente, ya que el color que es verde característico, cambia a color amarillo negruzco e inmediatamente se enturbia la solución y hace imposible leerla en el aparato.

Por éste método, se obtuvieron los valores más reproducibles en un tiempo no mayor de dos horas, calculándose el porcentaje de variación.

Método No. III.-

Discusión.-

Este método presenta el inconveniente que para llevar a cabo las de--

terminaciones, se realizan una serie de manipulaciones que originan un porcentaje de error más elevado. Los tiempos A, no leen para observar si no ha habido formación del derivado del Furfural al agregar el H_2SO_4 Sulfúrico, antes de calentar a 100°C , ya que daría una lectura mayor en el tiempo B y por tanto un resultado erróneo.

Por éste método no se pueda hacer la determinación de las Cápsulas conteniendo Lactosa, porque ésta produce Furfural y los espectros al Ultra Violeta son similares, dando entonces unos resultados muy elevados. (Como puede verse en el cuadro No. III).

En conclusión, el método del Orcinol, en comparación con el Microbiológico y el del Furfural, es recomendable solo para soluciones Inyectables. En las Cápsulas deberá tenerse en cuenta la presencia de Lactosa para no aplicarlo y además con Almidón, da resultados bajos.

VI.- BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

1.-

"New and Nonofficial Drugs".

Págs: 107-111. Año: 1962.

2.-

M.J.Cronn.

"Ann of the N.Y. Acad. of Sciences".

Vol: 76; Págs: 20-29, 44-65, 405-408; Año 1958-1959.

3.-

O.B.Farding.

"Journal of the American Chemical Society".

Vol: 80; Págs: 2911; Año: 1958.

4.-

"Remington's. Practice of Pharmacy".

12a. Ed. Pág: 1177; Año: 1961.

5.-

"Index Merck"

Merck Co., Inc.

Rahway, N.J. U.S.A.

Seventh Ed; Pág: 587; Año: 1960.

6.-

D.L.Johnson.

"Journal American Chemical Society".

Vol: 80; Pág: 4115; Año: 1958.

7.-

Kenneth L. Rinchart Jr.

"The Neomycins and Related Antibiotics".

Institute of Microbiology.

Pág: 79-88; Año: 1964.

8.-

"Antibiotics and Chemotherapeutics".

Vol: 10; No. 3; Pág: 148-153; Año: 1960.

9.-

"Diccionario de Especialidades Farmacéuticas".

Eds. P.L.M. S.A.

9a. Ed.; Año: 1962.

10.-

"Journal de Pharmacie de Belgique".

Nouvelle serie; Tomo XXI.

Números 1 y 2; Pág: 89; Año: 1966.

11.-

José R. Barceló.

"Diccionario Terminológico de Química".

1a. Ed.

Salvat Editores, S.A.

Barcelona, Madrid, México.

Pág: 578; Año: 1959.

12.-

Martin Eichen, Kenneth L. Rinchart Jr.

"Journal of the American Chem. Socy"

Vol: 85; Pág: 1547; Año 1963.

13.-

Foster Dee Snell and Cornelia T. Snell.

"Colorimetric Methods of Analysis".

D. Van Nostrand Company Inc.

Princeton, New Jersey.

Vol: III-A; Pág: 170; Año: 1961.

14.-

M.J. Cronn; Palermitti F.M. Perron, Taylor H.D.

"Journal of the Am. Chem. Soc."

Vol: 80; Pág: 752; Año: 1958.

15.-

Martin Hichens; M.J.Cronn.

"Journal Am. Chem Soc."

Vol: 80; Pág: 2342; Año: 1958.

16.-

Hans Holnaut Baer.

"J. Am. Chem. Soc."

Vol: 83; Pág: 1882; Año: 1961.

17.-

D.C. Garratt.

"The Quantitative Analysis of Drugs".

Third Ed.

Chapman & Hall Ltd.

New Fetter Lane, London.

Pág: 75; Año: 1964.

18.-

"Pharmacopeia of the United States of America".

Revision XVII.

Págs: 333-334; Año: 1962.

19.-

Joseph S. Fruton and Sofia Simmonds.

(41)

"General Biochemistry".

John Wiley & Sons, Suc. N.Y.

Pág: 378; Año: 1956.

20.-

"Analytical Abstracts".

Vol: 13; No. 5; Pág: 2172, 2815; Año: 1966.

21.-

"Compilation of Regulations for Tests and Methods of assay and ---
Certification of Antibiotic Drugs".

U.S. Department of Health, Education and Welfare.

Washington, 25 D.C.

Parth 148h; Año: 1964.

22.-

"Vademecum Internacional".

6a. Ed.

México.

Págs: 49-50; Año: 1960.

23.-

"Chemical Abstracts".

Vol: 61; Pág: 1711c; Año: 1964.

24.-

"Chemical Abstracts".

Vol: 64; Pág: 15676; Año: 1966.