



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Anteproyecto de Norma Oficial Mexicana para:  
Hidroxocobalamina (Base), Acetato de Hidroxocoba-  
lamina, Clorhidrato de Hidroxocobalamina, Yodo-  
clorohidroxiquinoleína y Diyodohidroxiquinoleína

336

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO  
BIOLOGO

P R E S E N T A  
JUAN DE JESUS ORDUÑO LEON



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

18511  
~~1976~~  
324



QUIMICA

JURADO ASIGNADO

Presidente	Q.F.B. RAMON ULACIA ESTEVE
Vocal	Q.F.B. ETELVINA MEDRANO DE JAIMES
Secretario	Q.F.B. BICE V. NOVI AVILA
1er. Suplente	Q.F.B. ANDRES ZUÑIGA PADILLA
2do. Suplente	Q.F.B. HECTOR JARA FARJEAT

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorios Sanfer, S. A.

Sustentante:

JUAN DE JESUS ORDUÑO LEON

Asesor del tema:

Q.F.B. BICE V. NOVI AVILA

Mi más sincero agradecimiento  
y respetos a las siguientes  
personas que hicieron posible  
la culminación de este trabajo:

Al Sr. Q.F.B. Antonio Macías  
Director Técnico del Grupo Roussel,  
S. A., por su ayuda y cooperación  
en la realización de los siguientes  
anteproyectos de Norma Oficial Mexi  
cana: hidroxocobalamina (base), clor  
hidrato de hidroxocobalamina y aceta  
to de hidroxocobalamina.

Al Sr. Q.F.B. Ricardo Eduardo Cázares  
García, a cargo del departamento de  
investigación y desarrollo de Productos  
Químicos Finos, S. A., por sus observa-  
ciones y ayuda proporcionada en la ela-  
boración de los siguientes anteproyectos  
de Norma Oficial Mexicana: hidroxocobala-  
mina (base), clorhidrato de hidroxocoba-  
lamina y acetato de hidroxocobalamina.

A la Sra. Q.F.B. Eugenia Lagarde de Boechler, por su valiosa ayuda en la elaboración de los siguientes anteproyectos de Norma Oficial Mexicana: yodoclorohidroxiquinoleína y diyodohidroxiquinoleína.

Al Sr. Ing. Santiago Bojalil, de los  
laboratorios Signa, S. A., por su ayu  
da proporcionada en los siguientes an  
teproyectos de Norma Oficial Mexicana:  
yodoclorohidroxiquinoleína y diyodohi-  
droxiquinoleína.

A la Srtra. Q.F.B. Irma Ponce de León, de los laboratorios Rey-Mol, S. A. de C. V., por su ayuda proporcionada en el anteproyecto de Norma Oficial Mexicana para: dihidroxiquinoleína.

A la Sritra. Q.F.B. Bice V. Novi  
Avila, responsable de los laborator  
rios Sanfer, S. A., sin cuya cooper  
ración y ayuda no hubiera sido pos  
sible la realización de este trabaj  
jo.

Mi más sincero agradecimiento a las siguientes instituciones y laboratorios por las facilidades otorgadas en el desarrollo de este tema:

Productos Químicos Finos, S. A.

Grupo Roussel, S. A.

Sanfer, S. A.

Secretaría de Industria y Comercio  
(Departamento de normalización).

Laboratorio Central de la Secretaría  
de Hacienda y Crédito Público.

A mis queridos padres.

Con todo respeto  
y  
carifio a  
mis hermanos.

A mis maestros

y

amigos.

"Os ruego que os intereséis  
por esos edificios sagrados  
llamados significativamente  
laboratorios. Pedid que sean  
multiplicados y completados.  
Son los templos del porvenir,  
de las riquezas y del bienesta  
tar".

Luis Pasteur.  
(1822 - 1895)

## I n t r o d u c c i ó n .

En enero de 1943, el antiguo Departamento de Pesas y Medidas fue transformado en la actual Dirección General de Normas; en la misma fecha en que se fundó la nueva Dirección, se creó el Departamento de Normalización.

El 31 de diciembre de 1945 se expidió la Ley de Normas Industriales. Esta Ley sentó las bases para el establecimiento de los contactos necesarios con los organismos internacionales de normalización y fue publicada el 11 de febrero de 1946 en el Diario Oficial de la Federación.

En diciembre de 1958, un Decreto Presidencial transformó a la antigua Secretaría de Economía en la actual Secretaría de Industria y Comercio, y el 7 de abril de 1961 se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Ley de Normas y Pesas y Medidas, actualmente en vigor.

A treinta años de su creación, la Dirección General de Normas es miembro de la Organización Internacional de Normalización (ISO) y de la Comisión Panamericana de Normas Técnicas (COPANT); representa al Gobierno de los Estados Unidos Mexicanos en la comisión del Codex Alimentarius, creada en 1962 por la Organización de las Naciones Unidas; también representa a México en organismos afines de otros países.

Asimismo, representa a México, por ministerio de Ley, en los organismos nacionales e internacionales de normalización, manteniendo con ellos intercambio permanente y recíproco de normas, recomendaciones y publicaciones, y está autorizada por los mismos para actuar como intermediaria en la venta de sus publicaciones.

Con plena conciencia de que no debe quedar al margen ni a la zaga de la intensa labor que realizan los diferentes organismos internacionales de normalización, la Dirección General de Normas envía a sus Directivos y Técnicos a las reuniones especializadas que organizan los países miembros, con instrucciones de participar activa y firmemente, considerando que, en un momento dado, pudiéranse adoptar decisiones lesivas a los intereses de México.

El 8 de octubre de 1975 se publicó en el Diario Oficial de la Federación, el Decreto Presidencial por el que se crea la Comisión Nacional consultiva para el Desarrollo de la Industria Farmacéutica. En cuyas consideraciones relacionadas con esta tesis encontramos:

"Que es necesario fijar las normas de calidad adecuadas para las materias primas de uso humano y veterinario, a fin de que cumplan con las especificaciones de la farmacopea nacional".

Por consiguiente los presentes anteproyectos de Norma Oficial Mexicana, tienen como fin el de ser revisadas y aprobadas por los diferentes subcomités de normalización respectivos y adquirir el carácter de proyecto; él cual una vez aprobado resulte una Norma Oficial Mexicana, la cual deberá obtener la aprobación de la Dirección General de Normas para su posterior publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Si en varios aspectos la industria farmacéutica que produce materias primas ha realizado el intento de cerrar las fronteras, al fabricarse aquí dichos productos, es necesario que el siguiente paso sea el crear una norma de sus productos para lo cual deberán apegarse a ella y obtener así el sello oficial de garantía de la Secretaría de Industria y Comercio.

Las diferencias entre norma y especificación, las encontramos en las siguientes definiciones:

Norma: "Es el resultado de un estudio particular de normali

zación, aprobado por una autoridad reconocida".

Especificación: "El enunciado concreto del conjunto de condiciones que debe satisfacer un producto, un material o un proceso, incluyendo, si es necesario, los métodos que permitan determinar si tales condiciones se cumplen".

Según el artículo: "Normalización Industrial. Que es y porque es". Del Dr. A. N. Ghosh, Director General del ISI; menciona los siguientes puntos importantes:

"Normalización: Es el proceso de formular y aplicar reglas para un acercamiento metódico a una determinada actividad en beneficio de los interesados y con la cooperación de los mismos, y especialmente para la promoción óptima de la economía total, tomando en cuenta las condiciones funcionales y requisitos de seguridad.

Hablando en términos generales, los propósitos de la normalización pueden catalogarse como sigue:

a) Realizar una economía máxima total en términos de: costo, esfuerzo humano y conservación de elementos fundamentales.

b) Garantizar la máxima utilidad en el uso.

c) Adoptar la mejor solución posible para los problemas que se presentan compatibles con las metas anteriores, tomando en cuenta todo el conocimiento científico disponible y los desarrollos tecnológicos modernos.

d) Definir niveles de requisitos de calidad, en tal forma que la evaluación práctica de la calidad y sus logros sean compatibles con los propósitos antes citados.

Ventajas:

Las normas ayudan al desarrollo de la economía industrial de un país mediante el establecimiento de requisitos para materia prima, procesos de producción, etc., con vistas a asegurar la calidad del producto; proporcionando la coordinación e integración

necesarias en los procesos industriales de una industria lo mismo que en los de otras industrias; procurando dar soluciones tanto económicas como tecnológicamente sólidas para los problemas que se presentan, disminuyendo tipos, variedades y tamaños; aumentando la productividad, reduciendo el costo de producción y haciendo mínimo el desperdicio; procurando que hasta donde sea posible, no se tenga que echar mano de materiales importados, costosos y raros; asegurando la intercambiabilidad de productos y partes de equipo y maquinaria; proporcionando métodos acordados de prueba y análisis, que permiten la comparación de resultados obtenidos por diferentes centros y por diferentes personas en diferentes momentos; y proporcionando las pruebas de control de calidad, etc.

La normalización ha originado muchas ventajas para los diferentes sectores de la economía como son los productores, consumidores, comercio y tecnólogos, aunque su valor no puede estimarse exactamente en términos de beneficios económicos y derivados".

Existen tres niveles de normas en la producción industrial:

Primer nivel.- Las normas empresariales.

Segundo nivel.- Normas nacionales.

Tercer nivel.- Normas internacionales.

Una norma nacional es aquella que es elaborada por los grupos directamente interesados en las especificaciones de un producto; organismos comerciales, institutos técnicos y de investigación, y por representantes de interés general.

En México, debido al acelerado desarrollo de la Industria el más importante nivel normalizador es el nacional. Sólo a través de este camino podemos salvar las barreras creadas por la diversidad caótica de técnicas que obstruyen el desarrollo que exige nuestra industria nacional.

En nuestro país, la Dirección General de Normas de la Secretaría de Industria y Comercio, es el organismo oficial encargado de la coordinación de los diferentes sectores interesados en la elaboración de normas.

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

HIDROXOCOBALAMINA (BASE)

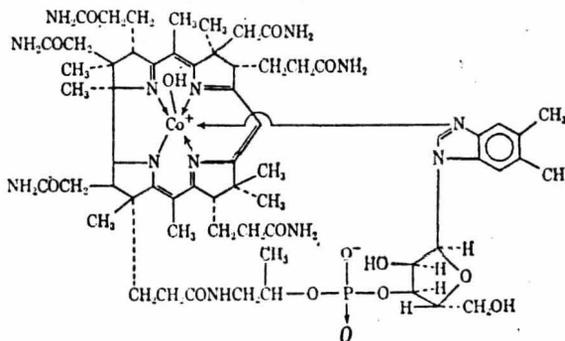
1. Generalidades

Derivado de la vitamina B<sub>12</sub>, obtenido mediante un proceso químico que incluye hidrogenación catalítica, fotólisis oxidativa y cromatografía de intercambio iónico, mediante el cual el grupo ciano de la vitamina B<sub>12</sub> ha sido substituido por el grupo hidroxilo.

1.1 Definiciones

Para efectos de esta norma se entiende por hidroxocobalamina el producto constituido por el compuesto químico C<sub>62</sub> H<sub>89</sub> Co N<sub>13</sub> O<sub>15</sub> P con peso molecular de 1346.37, con nombre químico de α(5,6-Dimetilbenzimidazolil) hidroxocobamida ó vitamina B<sub>12</sub> a ó Co α-[α-(5,6-Dimetilbenzimidazolil)]-Co β-hidroxocobamida ó vitamina B<sub>12</sub> b; con aspecto de cristales o polvo cristalino rojo oscuro, inodoros, casi insípidos. Cuando se seca al calor ocurre cierta descomposición. La forma anhidra es muy higroscópica.

Fórmula desarrollada:



1.2 Alcance

La presente norma se aplica a hidroxocobalamina base.

1.3 Usos

En la fabricación de medicamentos.

2. Clasificación

El producto objeto de ésta norma se clasifica en un sólo tipo y grado de calidad:

Hidroxocobalamina base no estéril.

3. Especificaciones

3.1 Del producto

La hidroxocobalamina objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla 1.

T A B L A 1	
Hidroxocobalamina base.	
Características:	Especificaciones:
Valoración (Espectrofotométrica).	Pasa la prueba.
Contenido de hidroxocobalamina (en base anhidra).	Mínimo 97%.
Humedad	15 a 19%.
pH (De una solución acuosa al 0.2%).	De 7.5 a 10
Solubilidad	Muy soluble en agua, soluble en etanol, poco soluble en éter etílico, prácticamente insoluble en acetona y cloroformo.
Impurezas coloridas	Máximo 5%.

Continúa T A B L A 1	
Pigmentos extraños (cianocobalamina no transformada).	Inferior al 3%.
Identificación	Pasa la prueba. (De acuerdo a los métodos de prueba).

3.2 Marcado

3.2.1 En el envase y empaque

En el empaque exterior y en el envase, debe aparecer una etiqueta de caracteres legibles y redactados en español los siguientes datos: Símbolo del fabricante, nombre del producto, peso neto expresado en gramos, número de lote, la leyenda "Hecho en México", la leyenda "consérvese el envase herméticamente cerrado, en lugar fresco y protegido de la luz", y cualquier otro dato que se juzgue conveniente, tales como precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los empaques y envases durante su transporte y almacenamiento y el sello oficial de garantía, cuando la Secretaría de Industria y Comercio lo juzgue conveniente.

3.3 Envasado y empacado

El producto objeto de esta norma se debe envasar en frasco ambar herméticamente cerrado y protegido en la parte exterior por una bolsa sellada de polietileno; que posteriormente se depositan en cuñetes de capacidad y material adecuados para que resistan su transporte y almacenamiento. Tanto en la base del cuñete como el espacio libre que queda entre sus paredes y las del frasco, así como en la parte superior de éste debe acondicionarse con material adecuado para la transportación y almacenamiento.

4. Muestreo

El muestreo se efectúa de común acuerdo entre fabricante y comprador.

4.1 Criterio de aceptación

El criterio de aceptación es de 100%.

5. Métodos de prueba

Los reactivos que se mencionan en todas las determinaciones siguientes, deben ser grado analítico, a menos que se mencione otra cosa; cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada y deionizada y el patrón de referencia será el patrón oficial.

5.1 Procedimiento para la identificación de hidroxocobalamina base

5.1.1 Método espectrofotométrico

5.1.1.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.1.1.2 Materiales y reactivos

Solución acuosa de hidroxocobalamina base al 0.004%.

Solución amortiguadora aceto-acética a un pH de 4-4.5

5.1.1.3 Procedimiento

Una solución acuosa al 0.004% de hidroxocobalamina base, recientemente preparada, exhibe tres absorbancias máximas a las longitudes de onda de:  $274 \pm 1$  nm, entre 351 y 358 nm y a  $525 \pm 2$  nm. Este hecho comprueba la presencia, en solución muestra, de dos formas de cristales de hidroxocobalamina base, una ionizada y otra sin ionizar, cuyo equilibrio se establece lentamente en medio neutro, a temperatura ambiente y se acelera en medio ácido.

La relación de absorbancias de la solución de hidroxocobalamina base en solución amortiguadora aceto-acética, midiendo las máximas absorbancias en un espectrofotómetro

tómetro a  $274 \pm 1$  nm, entre 351 nm y 358 nm y a  $525 \pm 2$  nm, en celdillas de cuarzo de 1 cm, utilizando como blanco la solución amortiguadora antes mencionada es:

$$\frac{A_{274 \pm 1 \text{ nm}}}{A_{\text{entre 351 y 358 nm}}} = 0.8 \pm 0.02$$

$$\frac{A_{525 \pm 2 \text{ nm}}}{A_{\text{entre 351 y 358 nm}}} = 0.34 \pm 0.01$$

5.1.2 Método químico

5.1.2.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.1.2.2 Materiales y reactivos

Pirosulfato de potasio.

S. I. de fenolftaleína.

Hidróxido de sodio.

Acetato de sodio.

Acido acético diluido.

1-nitroso-2-naftol 3,6 disulfonato disódico.

Acido clorhídrico.

Agua.

5.1.2.3 Procedimiento

En un crisol de porcelana, calientese suavemente hasta fusión, 1 mg de muestra con 50 mg de sulfato ácido de potasio, enfríese, triturese la masa formada, agregar 3 ml de agua y hiervase hasta que se disuelva. Agregar una gota de solución de fenolftaleína, luego gota a gota, solución de hidroxido de sodio al 10% hasta coloración rosa persistente. Agregar 0.5 gramos de acetato de sodio, 0.5 ml de ácido acético diluido y 0.5 ml de una solución al 2% P/V de 1-nitroso-2-naftol 3,6 disulfonato disódico.

5.1.2.4 Interpretación y resultados

Inmediatamente se produce un color rojo o anaranjado rojizo. Si se agrega 0.5 ml de ácido clorhídrico y se hierve por un minuto; debe persistir el color rojo ó anaranjado rojizo.

5.1.3 Método electroforético

5.1.3.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.1.3.2 Materiales y reactivos

Electrolito preparado con una solución 0.5 N de ácido acético.

5.1.3.3 Procedimiento

Se efectúa una electroforesis sobre papel, utilizando una solución de hidroxocobalamina base en un electrolito preparado con una solución 0.5 N de ácido acético, empleando una corriente constante de 500 volts, durante cinco horas.

5.1.3.4 Interpretación y resultados

No debe presentarse una zona pigmentada que se desplace desde el origen en dirección al cátodo.

5.2 Determinación de hidroxocobalamina base

5.2.1 Método espectrofotométrico

5.2.1.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.2.1.2 Materiales y reactivos

Hidroxocobalamina base.

Agua.

5.2.1.3 Procedimiento

En un matraz volumétrico de 1000 ml se disuelven 40 mg de hidroxocobalamina base en agua. La solución se dilu-

ye con agua hasta el aforo y se mezcla. En un espectrofotómetro, en celdillas de cuarzo de 1 cm, se miden las absorbancias máximas de la solución, a una longitud de onda cercana a 351 nm. Se calcula la cantidad, en por ciento, de hidroxocobalamina base en la muestra.

#### 5.2.1.4 Cálculos

Se realizan por medio de la siguiente fórmula:

$$P = \frac{A_u \times D \times 100}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

P = Cantidad de hidroxocobalamina base, en por ciento; en la muestra.

$A_u$  = Valor de la absorbancia de la solución muestra.

D = Dilución de la solución muestra en ml.

$E = E_{1\%}^{1\text{cm}} = 192$ .

p = Peso de la muestra expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

#### 5.2.1.5 Interpretación y resultados

El valor encontrado no deberá ser inferior al 97% en base anhidra.

#### 5.3 Determinación de pH

Determinar el pH de una solución acuosa de hidroxocobalamina base al 0.2% (P/V), de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-D-14 en vigor.

#### 5.4 Determinación de humedad

Una porción de la muestra entre 100 y 200 mg, desecada hasta peso constante entre 100°C y 105°C, bajo presión reducida inferior a 5 mm de mercurio, pierde entre el 15 y 19 por ciento de su peso.

5.5 Determinación de sulfatos

5.5.1 Aparatos y equipo

Aparato para combustión con oxígeno en matraz. (Consiste en un matraz cónico para yodo, de paredes gruesas, de 500 ml, a menos que se especifique uno de mayor capacidad. Deberá estar provisto de un tapón de vidrio ajustado, al cual se le ha introducido por fusión, el extremo de un alambre de platino y por el otro extremo lleva soldada una malla de platino de forma adecuada para contener la muestra a ensayar).

Equipo común de laboratorio.

5.5.2 Materiales y reactivos

117 mg de hidroxocobalamina base.

Solución absorbente (2 ml de S. R. de cloruro de bario, 1 ml de S. R. de ácido clorhídrico diluido y 8 ml de agua).

Acido sulfúrico 10:100

S. R. de ácido clorhídrico diluido.

S. R. de cloruro de bario.

Papel filtro exento de cenizas ó papel filtro Whatman No. 40 ó soportes de papel para la muestra de la casa A. H. Thomas, No. 6471-F.

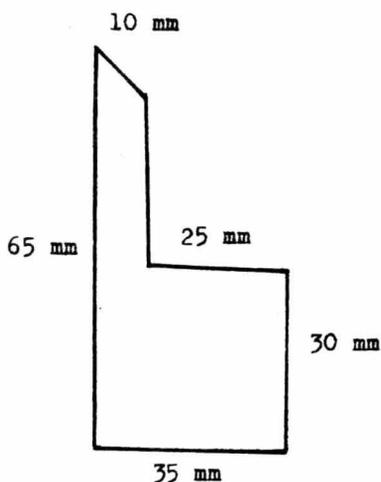
Oxígeno gas.

Agua.

5.5.3 Procedimiento

Precaución. Hasta el final de la prueba se deberá proceder con excepcional cuidado; el analista deberá usar anteojos de seguridad y observar una protección adecuada entre él y el aparato. El matraz empleado deberá estar perfectamente limpio y libre de huellas de solventes orgánicos.

Preparación de la muestra. Pesar 117 mg de hidroxocobalamina base en un papel filtro libre de haluros, de las dimensiones indicadas en la siguiente figura:



Se dobla para formar un pequeño paquete, dejando libre la tira de papel filtro más angosta y se asegura la muestra en la malla de platino del matraz correspondiente.

Proceso. Se humedece el cuello del matraz con agua, se deposita el líquido absorbente, que consiste en: 2 ml de S. R. de cloruro de bario, 1 ml de S. R. de ácido clorhídrico diluido y 8 ml de agua; se elimina el aire mediante una corriente rápida y abundante de oxígeno y se agita el líquido para oxigenarlo. Se enciende el extremo libre de la tira de papel filtro de una manera adecuada e inmediatamente se ajusta el tapón con firmeza. Cuando comienza a arder vigorosamente, el matraz se inclina un poco para evitar que caiga material no combustionado dentro del líquido. Cuando la combustión ha concluido se agita vigorosamente el matraz y se deja reposar durante no menos de diez minutos, agitándolo ocasionalmente. El contenido del matraz se vacía en un tubo de 25 ml, se lava el matraz con 11 ml de agua y se agrega al contenido del tubo.

5.5.4 Interpretación y resultados

Esta mezcla no presenta ni precipitado ni opalescencia o si las hay, no son respectivamente, ni mayor ni más intensa que los producidos en una mezcla de control preparada con 1 ml de solución 10:100 de ácido sulfúrico en agua, 1 ml de S. R. de ácido clorhídrico diluido, 18 ml de agua y 2 ml de S. R. de cloruro de bario.

5.6 Determinación de cloruros

5.6.1 Aparatos y equipo

Aparato para combustión con oxígeno en matraz (véase 5.5.1).

Equipo común de laboratorio.

5.6.2 Materiales y reactivos

117 mg de hidroxocobalamina base.

Solución absorbente (10 ml de solución 2 N de hidróxido de sodio).

Acido nítrico diluido.

Nitrato de plata al 5%.

Acido clorhídrico al 0.1%.

Agua.

Oxígeno gas.

Papel filtro exento de cenizas ó papel filtro Whatman No. 40 ó soportes de papel para la muestra de la casa A. H. Thomas, No. 6471-F.

5.6.3 Procedimiento

Precaución (véase 5.5.3).

Preparación de la muestra (véase 5.5.3).

Proceso. Se humedece el cuello del matraz con agua, se deposita el líquido absorbente, que consiste en: 10 ml de solución 2 N de hidróxido de sodio; se elimina el aire mediante una corriente rápida y abundante de oxígeno y se agita el líquido para oxigenarlo. Se enciende el extremo libre de la tira de papel filtro de una mane

ra apropiada e inmediatamente se ajusta el tapón con firmeza. Cuando comienza a arder vigorosamente, el matraz se inclina un poco para evitar que caiga material no combustionado dentro del líquido. Cuando la combustión ha concluido se agita vigorosamente el matraz y se deja reposar durante no menos de 10 minutos, agitándolo ocasionalmente. A la solución final se le agregan 5 ml de ácido nítrico diluido; la mezcla se pasa a un tubo de 25 ml y el matraz se lava con 5 ml de agua que se pasa al contenido del tubo, al que se agregan 0.5 ml de solución al 5% de nitrato de plata y se mezcla.

#### 5.6.4 Interpretación y resultados

Se produce opalescencia que no es más intensa que la producida en una solución control, preparada en un tubo idéntico, con 1 ml de solución al 0.1% de ácido clorhídrico, 10 ml de solución 2 N de hidróxido de sodio, 5 ml de ácido nítrico diluido, 5 ml de agua y 0.5 ml de solución al 5% de nitrato de plata.

#### 5.7 Determinación de acetato

En un matraz de destilación de fondo redondo, de 25 ml, se depositan 200 mg de hidroxocobalamina base, 5 ml de agua, 1 g de sulfato ácido de potasio y algunas cuentas de vidrio, que sirven para regular la ebullición. La solución se mezcla y se destila hasta sequedad; al destilado se agrega 0.1 ml de solución al 10% de hidróxido de sodio y enseguida se evapora hasta que el volumen se reduzca a 1 ml. Se enfría y se agregan 1.5 ml de etilenglicol y enseguida 0.2 ml de solución al 60% de ácido sulfúrico. La solución se lleva a ebullición durante tres minutos, en baño María; se enfría y se agregan 0.5 ml de solución acuosa al 7% de clorhidrato de hidroxilamina y 2 ml de solución al 10% de hidróxido de sodio, mezclando bien y después de un minuto, se agregan 2 ml

de solución al 10% de ácido sulfúrico y 0.2 ml de solución al 15% de cloruro férrico: No se produce coloración roja-violácea o si la hay es, cuando más, como la producida en una solución de control, preparada en forma idéntica con 1 ml de solución al 0.01% de ácido acético.

5.8 Determinación de impurezas coloridas

5.8.1 Método cromatográfico

5.8.2 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.8.3 Materiales y reactivos

Resina IRC-50 forma ácida o equivalente.

Cianuro de potasio al 1% y al 10% recientemente preparados.

Alcohol butílico secundario.

Acido acético glacial.

Hidroxocobalamina base.

Papel cromatográfico Whatman No. 1

Agua.

Cámara cromatográfica.

Microjeringa y aguja.

5.8.4 Procedimiento

Preparación A.

En un cristizador se deposita aproximadamente 1 ml de resina IRC 50 forma ácida previamente lavada hasta neutralidad. El cristizador se coloca en una campana adecuada y tomando las precauciones necesarias, se agregan sobre la resina 5 ml de solución acuosa al 1% de cianuro de potasio. Se agita y después de cinco minutos se dispone de la cantidad indicada de solución sobrenadante (1 ml).

Preparación B.

Se agitan 500 ml de agua con 500 ml de alcohol butílico secundario y se dejan reposar durante 15 horas, entre 25°C y 30°C, agitando de vez en vez. Transcurrido ese tiempo se separa la capa inferior, se le agrega el 1% (v/v) de ácido acético glacial y, tomando las precauciones necesarias, 5 ml de solución acuosa al 10% de cianuro de potasio. Esta solución se utiliza como fase estacionaria.

#### Preparación C.

A la capa superior de la preparación "B" se le agrega 5% (v/v) de alcohol butílico secundario y 1% (v/v) de ácido acético glacial. Se emplea como fase móvil.

#### Procedimiento general.

Se disuelven 50 mg de hidroxocobalamina base por ensayar en 4 ml de agua. Se agrega, gota a gota, 1 ml de la preparación sobrenadante "A" y se deja reposar durante 15 minutos, agitando de vez en vez. En tiras de papel cromatográfico de 55 cm de largo por 19 cm de ancho, se deposita sobre toda la línea previa y finamente trazada con lápiz a 8.5 cm de distancia de los bordes del papel y dejando 1.5 cm de cada lado a lo largo del papel; 0.5 ml de la solución de la muestra, tratada como antes se indico valiendose de una microjeringa y con las tiras así preparadas se efectúa una cromatografía descendente, utilizando la preparación "B" como fase estacionaria y la preparación "C" como fase móvil. El tiempo de saturación del papel debe ser, por lo menos, de cuatro horas previo a correr el cromatograma, él cual se retira de la cámara, hasta que la banda principal colorida haya recorrido dos tercios de la longitud total de la hoja. (36.6 cm a partir del extremo superior).

Una vez logrado esto el cromatograma se seca al aire y se separa la banda principal y las bandas correspondientes a las impurezas, que podran ser de mayor o menor po-

laridad con respecto a la banda principal y por lo tanto pueden estar hacia arriba o hacia abajo de la misma; cortándolas en tiras paralelas a la línea de aplicación. Se elimina la banda principal y con cada banda de impurezas se efectúa, por separado, una cromatografía descendente, empleando papel filtro humedecido que se retira cuando la impureza colorida se extiende hasta el borde inferior. Los cromatogramas se secan al aire y sus extremos coloreados secos, se cortan y se eluyen con agua en un vaso pequeño de precipitados, hasta extraer completamente la impureza colorida, para lo cual la extracción se repite dos o tres veces, utilizando la mínima cantidad de agua. Las porciones eluidas se reúnen y se depositan en un matraz volumétrico de 25 ml, filtrándolas si es necesario y se diluye con agua hasta el aforo. En un espectrofotómetro UV-visible, empleando celdillas de cuarzo de 1 cm, se mide la absorbancia máxima, a una longitud de onda cercana a 361 nm, utilizando agua destilada y deionizada como blanco.

#### 5.8.5

#### Cálculos

Se calculan las impurezas coloridas, por medio de la siguiente fórmula:

$$I. C. = \frac{A_u \times D \times 100}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

I. C. = Cantidad de impureza colorida en por ciento.

$A_u$  = Valor de la absorbancia de la solución muestra a la longitud de onda de 361 nm.

D = Dilución en ml (25 ml).

$E = E_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 207.$

p = Peso de la muestra ensayada expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

5.8.6 Interpretación y resultados

El valor encontrado deberá ser, cuando más, el 5% de impurezas coloridas.

5.9 Determinación de pigmentos extraños (cianocobalamina no transformada)

5.9.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.9.2 Materiales y reactivos

Dietilaminoetilcelulosa.

Hidróxido de sodio 0.5 N

Carboximetilcelulosa.

Acido clorhídrico 0.5 N

Hidroxocobalamina base.

Acido clorhídrico.

Fibra de vidrio.

Agua.

5.9.3 Procedimiento

Agítese dietilaminoetilcelulosa (la más adecuada es la Whatman DE 11) con hidróxido de sodio 0.5 N, diluyase en agua, déjese sedimentar y deséchese el líquido sobrenadante. Agítese con agua, transfírase a un embudo Büchner y lávese con agua hasta que las aguas del lavado resulten libres de álcalis.

Transfiera una porción del absorbente a una columna de 22 cm de longitud y de 1.2 cm de diámetro, al cual se le haya adaptado una llave y déjese sedimentar hasta que la altura del absorbente sea de unos 19 cm. Lávese con agua hasta que el pH del agua que salga sea constante y comprímase hasta una altura de 14.5 cm.

Agítese carboximetilcelulosa (la adecuada es Whatman CM 11) con ácido clorhídrico 0.5 N, diluya con agua, deje

sedimentar y deséchese el líquido sobrenadante. Agítese con agua, transferir una porción del absorbente a una columna de 22 cm de longitud y 1.2 cm de diámetro, adaptese una llave, y comprímase hasta una altura de unos 10 cm. Lavar con agua hasta que el pH del agua que salga sea constante.

Coloque hasta abajo un tapón de fibra de vidrio en cada columna y déjese escurrir hasta que solo permanezca en la columna una pequeña cantidad de agua. Pónganse las columnas de tal manera que la substancia que fluya de la columna de dietilaminoetilcelulosa caiga dentro de la columna de carboximetilcelulosa.

Disolver 50 mg de hidroxocobalamina base en 20 ml de agua que contenga ácido clorhídrico suficiente para dar un pH menor de 4, agregue esta solución a la columna de dietilaminoetilcelulosa y déjese correr a través de las dos columnas, desechando el primer eluido colorido de la columna de carboximetilcelulosa. Mida la extinción en una celda de cuarzo de 1 cm de la solución resultante a un máximo de 361 nm. Calcule el contenido de los pigmentos extraños tomando 207 como el valor de  $E(1\%, 1 \text{ cm})$  a un máximo de 361 nm.

#### 5.9.4

##### Cálculos

Se calculan los pigmentos extraños, por medio de la siguiente fórmula:

$$P. E. = \frac{A_u \times 1000}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

P. E. = Pigmentos extraños en por ciento.

$A_u$  = Absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 361 nm.

$E = E_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 207.$

p = Peso de la muestra, expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

5.9.5 Interpretación y resultados

No más del 3% de pigmentos extraños (cianocobalamina no transformada) cuando se determinan por el método anterior.

5.10 Determinación de impurezas ácidas

5.10.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.10.2 Materiales y reactivos

Columna de dietilaminoetilcelulosa utilizada en 5.9.3  
Cloruro de sodio al 1%.

5.10.3 Procedimiento

Eluya la columna de dietilaminoetilcelulosa usada en 5.9.3, con una solución al 1% (P/V) de cloruro de sodio, colectando 50 ml del eluido. Mida la extinción en una celda de cuarzo de 1 cm, de la solución resultante a un máximo entre 351 y 361 nm. Calcule el contenido de impurezas ácidas tomando 190 como el valor de E(1%, 1 cm) a un máximo entre 351 y 361 nm.

5.10.4 Cálculos

Se calculan las impurezas ácidas, por medio de la siguiente fórmula:

$$I. A. = \frac{A_u \times 1000}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

I. A. = Impurezas ácidas, expresadas en por ciento.

$A_u$  = Absorbancia del eluido colectado a una longitud de onda entre 351 y 361 nm.

$E = E_{1\%}^{1\text{cm}} = 190.$

p = Peso de la muestra, expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

5.10.5 Interpretación y resultados

No más del 3% de impurezas ácidas, determinadas por el método anterior.

6. Bibliografía

Babior, Bernard M. y Co.; Cobalamin -biochemistry and pathophysiology-, Primera edición, Editorial Wiley Interscience Publication, EE. UU., 1975. Pág. 455.

British Pharmacopeia 1973. Págs. 233-234.

Brown, Gleen H. y Sallee Eugene M.; Química cuantitativa, Primera edición; Editorial Reverté, S. A., 1967. Págs. 573, 580-582.

Burger, Alfred; Medical Chemistry, Tercera edición, Editorial Wiley Interscience Publication, EE. UU., 1970, Págs. 827-828.

Dictionary of organic compounds. Vol. 5. Phlor-Zym. London. Eyre and Spottiswoode Publishers LTD. Cuarta edición 1965.

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. Cuarta edición, 1974. Págs. 881-884.

Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana.; Octava edición, Volumen II, 1972. Págs. 580-583.

Kacska, E., Wolf, D. E. and Folkers, K.; "Vitamin B<sub>12</sub>. V. Identification of crystalline vitamin B<sub>12</sub> a". Journal of the American Society. 71, 1514 (1949).

National Formulary XLV. Págs. 335-337.

Pierce, J. V., Page, A. C., Jr., Stokstad, E. L. R. and Jukes, T. H.; "Crystallization of vitamin B<sub>12</sub> b". Journal of the American Society. 71, 2952 (1949).

Prepared and Edited by Association of vitamin chemists, Inc.; Methods of vitamin Assay, Second Edition, Interscience publishers. Inc. N. Y. 1971. Pág. 255.

Pro Farmacopea Francesa 1970. Págs. 69-71.

The Merck Index. Pág. 547.

Woodroff, H. B. and Foster, J. C.; "Analysis for vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>12</sub> a by paper strip chromatography". The Journal of Biological Chemistry. 183. 569 (1950).

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

ACETATO DE HIDROXOCOBALAMINA

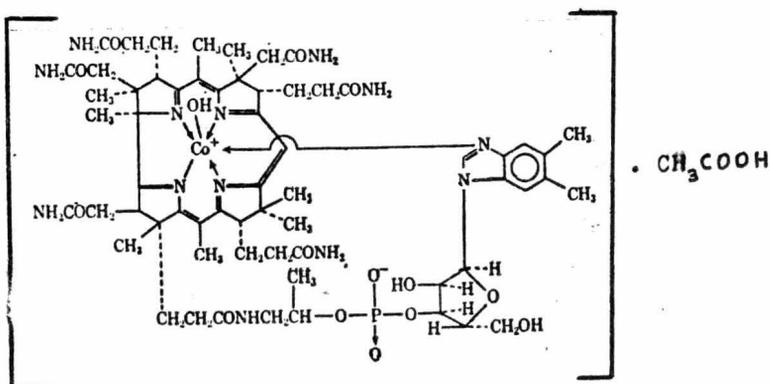
1. Generalidades

Sal de la vitamina B<sub>12</sub>, formada por hidroxocobalamina y ácido acético; perteneciente al grupo de las vitaminas que son solubles en agua.

1.1 Definiciones

Para los efectos de esta norma se entiende por acetato de hidroxocobalamina al producto constituido principalmente por el compuesto químico C<sub>62</sub> H<sub>89</sub> O<sub>15</sub> N<sub>13</sub> P Co . CH<sub>3</sub>COOH, con peso molecular de 1406, con nombre químico de acetato de α(5,6-Dimetilbenzimidazolil) acuocobamida ó acetato de acuocobalamina, con aspecto de cristales o polvo cristalino rojo obscuro, inodoro e higroscópico. Sensible a la acción del calor y a la luz solar.

Fórmula desarrollada:



1.2 Alcance

Esta norma se aplica al acetato de hidroxocobalamina.

1.3 Usos

Para la fabricación de medicamentos.

2. Clasificación

El producto objeto de ésta norma se clasifica en un sólo tipo y grado de calidad:

Acetato de hidroxocobalamina no estéril.

3. Especificaciones

3.1 Del producto

El acetato de hidroxocobalamina objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla 1.

T A B L A 1	
Acetato de hidroxocobalamina.	
Características:	Especificaciones:
Identificación.	Pasa la prueba. (De acuerdo a los métodos de prueba).
Contenido de acetato de hidroxocobalamina. (En base anhidra).	Mínimo 96%.
pH (en solución acuosa al 0.2% P/V).	5 a 7.
Humedad.	Máximo 12%.
Impurezas coloridas.	Máximo 3%.
Solubilidad.	Soluble en agua y <u>al</u> cohol. Insoluble en acetona, éter y clo-roformo.

3.2 Marcado

3.2.1 En el envase y empaque

En el empaque exterior y en el envase, debe aparecer una etiqueta de caracteres legibles y redactados en español los siguientes datos: Símbolo del fabricante, nombre del producto, peso neto expresado en gramos, número de lote, la leyenda "consérvese el envase herméticamente cerrado, en lugar fresco y protegido de la luz", y cualquier otro dato que se juzgue conveniente, tales como precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los empaques y envases durante su transporte y almacenamiento y el sello oficial de garantía, cuando la Secretaría de Industria y Comercio lo juzgue conveniente.

3.3 Envasado y empackado

El producto objeto de ésta norma se debe envasar en frasco ambar herméticamente cerrado y protegido en la parte exterior por una bolsa sellada de polietileno; que posteriormente se depositan en cuñetes de capacidad y material adecuados para que resistan su transporte y almacenamiento. Tanto en la base del cuñete como en el espacio libre que quedan entre sus paredes y las del frasco, así como en la parte superior de éste, deberán acondicionarse con material adecuado para la transportación y almacenamiento.

4. Muestreo

El muestreo se efectúa de común acuerdo entre fabricante y comprador.

4.1 Criterio de aceptación

El criterio de aceptación es de 100%.

5. Métodos de prueba

Los reactivos que se mencionen en todas las determinaciones siguientes, deben ser grado analítico, a menos que

se mencione otra cosa; cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada y deionizada y el patrón de referencia será el patrón oficial.

5.1. Procedimiento para la identificación de acetato de hidroxocobalamina

5.1.1 Método espectrofotométrico

5.1.1.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.  
Equipo común de laboratorio.

5.1.1.2 Materiales y reactivos

Acetato de hidroxocobalamina.  
Agua.

5.1.1.3 Procedimiento

Preparar una solución acuosa al 0.1% de acetato de hidroxocobalamina, colocar dicha solución en una celdilla de 1 cm de espesor y en otra celdilla idéntica colocar agua como blanco, las cuales se colocan en un espectrofotómetro UV-visible para su lectura.

5.1.1.4 Interpretación y resultados

Dicha solución presenta tres máximos de absorción a las siguientes longitudes de onda:  $523 \pm 2$  nm,  $351 \pm 1$  nm y  $274 \pm 1$  nm.

5.1.2 Método químico (identificación del ión acetato)

5.1.2.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.1.2.2 Materiales y reactivos

Sulfato monoácido de potasio.  
Etilenglicol.

Solución al 60% de ácido sulfúrico.

Solución al 7%, P/V de clorhidrato de hidroxilamina.

Hidróxido de sodio al 10%.

Acido sulfúrico diluido.

Cloruro férrico.

Agua.

Acetato de hidroxocobalamina.

5.1.2.3 Procedimiento

Se disuelven 0.05 g de acetato de hidroxocobalamina en cinco ml de agua, se agrega 1 g de sulfato monoácido de potasio y en baño María se evapora hasta cerca de 0.5 ml; se agregan, 1.5 ml de etilenglicol y 0.2 ml de solución al 60% de ácido sulfúrico. La mezcla se hierve en baño María durante 3 minutos y enseguida se enfría. Se agregan 0.5 ml de solución acuosa al 7%, P/V, de clorhidrato de hidroxilamina y 2 ml de solución al 10% de hidróxido de sodio y se mezcla. Se deja reposar un minuto y se agregan 2 ml de ácido sulfúrico diluido y 0.2 ml de solución al 15% de cloruro férrico.

5.1.2.4 Interpretación y resultados

Aparece una coloración rojo violácea correspondiente al ión acetato.

5.1.3 Método químico

5.1.3.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.1.3.2 Materiales y reactivos

Sulfato monoácido de potasio.

S. I. de fenoltaleína.

Hidróxido de sodio al 10%.

Acetato de sodio.

Acido acético diluido.

Solución 1:500 de nitroso-1-hidroxi-2-naftalenodisulfonato-3,6-disódico.

Acido clorhídrico.

Agua.

Acetato de hidroxocobalamina.

5.1.3.3 Procedimiento

En un crisol de porcelana se calienta suavemente hasta fusión, aproximadamente 1 mg de acetato de hidroxocobalamina con 50 mg de sulfato monoácido de potasio, se deja enfriar y el residuo se disuelve en 3 ml de agua hirviendo, con ayuda de una varilla de vidrio. A la solución se agrega una gota de S. I. de fenolftaleína y enseguida, gota a gota, solución al 10% de hidróxido de sodio, hasta coloración rosa persistente. Se agregan después 500 mg de acetato de sodio, 0.5 ml de ácido acético diluido, 0.5 ml de una solución 1:500 de nitroso-1-hidroxi-2-naftalenodisulfonato-3,6-disódico.

5.1.3.4 Interpretación y resultados

Se produce inmediatamente una coloración roja-anaranjada, que no desaparece cuando se agregan 0.5 ml de ácido clorhídrico y se hierve durante un minuto.

5.2 Determinación de impurezas coloridas

5.2.1 Método cromatográfico

5.2.2 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.2.3 Materiales y reactivos

Resina IRC 50 forma ácida o equivalente.

Cianuro de potasio al 1% y al 10% recientemente preparados.

Alcohol butílico secundario.

Acido acético glacial.

Agua.

Papel cromatográfico Whatman No. 1.

Acetato de hidroxocobalamina.

Cámara cromatográfica.

Microjeringa y aguja.

5.2.4

Procedimiento

Preparación A.

En un cristizador se deposita aproximadamente 1 ml de resina IRC 50 forma ácida previamente lavada hasta neutralidad. El cristizador se coloca en una campana adecuada y tomando las precauciones necesarias, se agregan sobre la resina 5 ml de solución acuosa al 1% de cianuro de potasio. Se agita y después de cinco minutos se dispone de la cantidad indicada de solución sobrenadante (1 ml).

Preparación B.

Se agitan 500 ml de agua con 500 ml de alcohol butílico secundario y se dejan reposar durante 15 horas, entre 25°C y 30°C, agitando de vez en vez. Transcurrido ese tiempo se separa la capa inferior, se le agrega el 1% (v/v) de ácido acético glacial y, tomando las precauciones necesarias, 5 ml de solución acuosa al 10% de cianuro de potasio. Esta solución se utiliza como fase estacionaria.

Preparación C.

A la capa superior de la preparación "B" se le agrega 5% (v/v) de alcohol butílico secundario y 1% (v/v) de ácido acético glacial. Se emplea como fase móvil.

Procedimiento general.

Se disuelven 50 mg de acetato de hidroxocobalamina por ensayar en 4 ml de agua. Se agrega, gota a gota, 1 ml de la preparación sobrenadante "A" y se deja reposar durante 15 minutos, agitando de vez en vez. En tiras de papel cromatográfico de 55 cm de largo por 19 cm de ancho, se deposita sobre toda la línea previa y finamente trazada con lápiz a 8.5 cm de distancia de los bordes del papel y dejando 1.5 cm de cada lado a lo largo del papel; 0.5 ml de la solución de la muestra, tratada co-

mo antes se indico valiendose de una microjeringa y con las tiras así preparadas se efectúa una cromatografía descendente, utilizando la preparación "B" como fase estacionaria y la preparación "C" como fase móvil. El tiempo de saturación del papel debe ser, por lo menos, de cuatro horas previo a correr el cromatograma, él cual se retira de la cámara, hasta que la banda principal colorida haya recorrido dos tercios de la longitud total de la hoja. (36.6 cm a partir del extremo superior).

Una vez logrado esto el cromatograma se seca al aire y se separa la banda principal y las bandas correspondientes a las impurezas, que podran ser de mayor o menor polaridad con respecto a la banda principal y por lo tanto pueden estar hacia arriba o hacia abajo de la misma; cortándolas en tiras paralelas a la línea de aplicación. Se elimina la banda principal y con cada banda de impurezas se efectúa, por separado, una cromatografía descendente, empleando papel filtro humedecido que se retira cuando la impureza colorida se extiende hasta el borde inferior. Los cromatogramas se secan al aire y sus extremos coloreados secos, se cortan y se eluyen con agua en un vaso pequeño de precipitados, hasta extraer completamente la impureza colorida, para lo cual la extracción se repite dos o tres veces, utilizando la mínima cantidad de agua. Las porciones eluidas se reúnen y se depositan en un matraz volumétrico de 25 ml, filtrándolas si es necesario y se diluye con agua hasta el aforo.

En un espectrofotómetro UV-visible, empleando celdillas de cuarzo de 1 cm, se mide la absorbancia máxima, a una longitud de onda cercana a 361 nm, utilizando agua destilada y deionizada como blanco.

#### 5.2.5

#### Cálculos

Se calculan las impurezas coloridas, por medio de la fórmula:

$$I. C. = \frac{A_u \times D \times 100}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

I. C. = Cantidad de impureza colorida en por ciento.

$A_u$  = Valor de la absorbancia de la solución muestra a longitud de onda de 361 nm.

D = Dilución en ml (25 ml).

$E = E_1^{1\%} \text{ cm} = 207.$

p = Peso de la muestra ensayada expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

#### 5.2.6 Interpretación y resultados

El valor encontrado no deberá ser superior al 3%.

#### 5.3 Determinación de pH

Determinar el pH de una solución acuosa de acetato de hidroxocobalamina al 0.2% (P/V), de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-D-14 en vigor.

#### 5.4 Determinación de humedad

Se pesan aproximadamente 100 mg de acetato de hidroxocobalamina y se depositan en un pesafiltros. El pesafiltro se introduce en una estufa a la que se aplica vacío menor de 5 mm de mercurio. La temperatura se mantiene entre 100°C y 105°C durante una hora.

#### 5.4.1 Interpretación y resultados

La pérdida de peso es entre el 10 y 12 por ciento.

#### 5.5 Determinación del contenido de acetato de hidroxocobalamina (en base anhidra)

##### 5.5.1 Método espectrofotométrico

##### 5.5.2 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.5.3 Materiales y reactivos

Acetato de hidroxocobalamina.

Agua.

5.5.4 Procedimiento

En un matraz volumétrico de 1000 ml se disuelven 40 mg de acetato de hidroxocobalamina en agua. La solución se diluye con agua hasta el aforo y se mezcla. En un espectrofotómetro UV-visible y en celdillas de cuarzo de 1 cm, se miden las absorbancias máximas de la solución, a una longitud de onda cercana a 351 nm.

5.5.5 Cálculos

Se efectúan por medio de la siguiente fórmula:

$$P = \frac{A_u \times D \times 100}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

P = Cantidad de acetato de hidroxocobalamina, en por ciento; en la muestra.

$A_u$  = Valor de la absorbancia de la muestra.

D = Dilución de la solución muestra en ml.

$E = E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 187.$

p = Peso de la muestra ensayada expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

5.5.6 Interpretación y resultados

El valor encontrado no deberá ser inferior al 96% en base anhidra.

5.6 Determinación de hidroxocobalamina base pura y anhidra

5.6.1 Procedimiento

Proceder como se indica en:

5.5 a 5.5.5

5.4 y

5.2 a 5.2.6

y dichos resultados se substituyen en la siguiente fórmula:

Determinación de hidroxocobalamina base pura y anhidra.	Valora- ción del producto - humedad - impurezas = <u>anhidro. coloridas.</u>	1.0446
---	---	--------

Donde:

1.0446 = Factor de conversión de acetato a base.

6.

Bibliografía

British Pharmacopeia 1973. Págs. 233-234.

Cázares García, Ricardo E., Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas; artículo "Separación y valoración de impurezas coloridas (ácidos rojos) en acetato de hidroxocobalamina". 1973. Pág. 37.

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. Cuarta edición, 1974. Págs. 884-885.

Pro Farmacopea Francesa 1970. Págs. 72-75.

## ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

### CLORHIDRATO DE HIDROXOCOBALAMINA

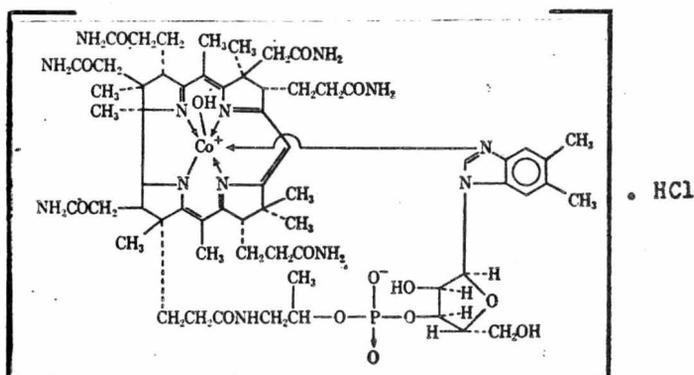
#### 1. Generalidades

Sal de la vitamina B<sub>12</sub>, formada por hidroxocobalamina y ácido clorhídrico; perteneciente al grupo de las vitaminas que son solubles en agua.

#### 1.1 Definiciones

Para los efectos de esta norma se entiende por clorhidrato de hidroxocobalamina el producto constituido principalmente por el compuesto químico C<sub>62</sub> H<sub>89</sub> O<sub>15</sub> N<sub>13</sub> P Co . HCl, con peso molecular de 1382.5 con nombre químico de cloruro de α(5,6-Dimetilbenzimidazolil) acuocobamida o clorhidrato de acuocobalamina, con aspecto de cristales o polvo cristalino, higroscópico, de color rojo oscuro, inodoro, que se descompone cuando se expone al calor y a la luz solar.

Fórmula desarrollada:



- 1.2 Alcance  
La presente norma se aplica a el clorhidrato de hidroxocobalamina.
- 1.3 Usos  
Para la fabricación de medicamentos.
2. Clasificación  
El producto objeto de ésta norma se clasifica en un sólo tipo y grado de calidad:  
Clorhidrato de hidroxocobalamina no estéril.
3. Especificaciones
- 3.1 Del producto  
El clorhidrato de hidroxocobalamina objeto de ésta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla 1.

T A B L A 1	
Clorhidrato de hidroxocobalamina.	
Características:	Especificaciones:
Valoración (espectrofotométrica).	Mínimo 96% en base anhidra.
pH (en solución acuosa al 0.2% P/V).	Entre 5 y 7.
Humedad	Entre 10 y 14%.
Impurezas coloridas	Máximo 3%.
Solubilidad.	Muy soluble en agua y alcohol, prácticamente insoluble en éter, acetona y cloroformo.
Identificación.	Pasa la prueba. (De acuerdo a los métodos de prueba).

3.2 Marcado

3.2.1 En el envase y empaque

En el empaque exterior y en el envase, debe aparecer una etiqueta de caracteres legibles y redactados en español los siguientes datos: Símbolo del fabricante, nombre del producto, peso neto expresado en gramos, número de lote, la leyenda "Hecho en México", la leyenda "consérvese el envase herméticamente cerrado, en lugar fresco y protegido de la luz", y cualquier otro dato que se juzgue conveniente, tales como precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de empaques y envases durante su transporte y almacenamiento y el sello oficial de garantía, cuando la Secretaría de Industria y Comercio lo juzgue conveniente.

3.3 Envasado y empaclado

El producto objeto de esta norma se debe envasar en frasco ambar herméticamente cerrado y protegido en la parte exterior por una bolsa sellada de polietileno; que posteriormente se depositan en cuñetes de capacidad y material adecuados para que resistan su transporte y almacenamiento. Tanto en la base del cuñete como el espacio libre que queda entre sus paredes y las del frasco, así como en la parte superior de éste debe acondicionarse con material adecuado para la transportación y almacenamiento.

4. Muestreo

El muestreo se efectúa de común acuerdo entre fabricante y comprador.

4.1 Criterio de aceptación

El criterio de aceptación es de 100%.

5. Métodos de prueba

Los reactivos que se mencionan en todas las determina-

ciones siguientes, deben ser grado analítico, a menos que se mencione otra cosa; cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada y deionizada y el patrón de referencia será el patrón oficial.

- 5.1 Procedimiento para la identificación de clorhidrato de hidroxocobalamina
- 5.1.1 Método espectrofotométrico
- 5.1.1.1 Aparatos y equipo  
Equipo común de laboratorio.  
Espectrofotómetro UV-visible.
- 5.1.1.2 Materiales y reactivos  
Clorhidrato de hidroxocobalamina.  
Agua.
- 5.1.1.3 Procedimiento  
Preparar una solución acuosa al 0.1% de clorhidrato de hidroxocobalamina, colocar dicha solución en una celdilla de cuarzo de 1 cm de espesor y en otra celdilla idéntica colocar agua como blanco, las cuales se colocan en un espectrofotómetro UV-visible para su lectura.
- 5.1.1.4 Interpretación y resultados  
Dicha solución presenta tres máximos de absorción a las siguientes longitudes de onda:  $523 \pm 2$  nm,  $351 \pm 1$  nm y  $274 \pm 1$  nm.
- 5.1.2 Método químico
- 5.1.2.1 Aparatos y equipo  
Equipo común de laboratorio.
- 5.1.2.2 Materiales y reactivos  
Sulfato monoácido de potasio.  
S. I. de fenolftaleína.  
Hidróxido de sodio al 10%.  
Acetato de sodio.

Acido acético diluido.

Solución 1:500 de nitroso-1-hidroxi-2-naftalenodisulfonato-3,6-disódico.

Acido clorhídrico.

Agua.

Clorhidrato de hidroxocobalamina.

#### 5.1.2.3 Procedimiento

En un crisol de porcelana se calienta suavemente hasta fusión, aproximadamente 1 mg de clorhidrato de hidroxocobalamina con 50 mg de sulfato monoácido de potasio, se deja enfriar y el residuo se disuelve en 3 ml de agua hirviente, con ayuda de una varilla de vidrio. A la solución se agrega una gota de S. I. de fenolftaleína y enséguida, gota a gota, solución al 10% de hidróxido de sodio, hasta coloración rosa persistente. Se agregan después 500 mg de acetato de sodio, 0.5 ml de ácido acético diluido, 0.5 ml de una solución 1:500 de nitroso-1-hidroxi-2-naftalenodisulfonato-3,6-disódico.

#### 5.1.2.4 Interpretación y resultados

Se produce inmediatamente una coloración roja-anaranjada, que no desaparece cuando se agregan 0.5 ml de ácido clorhídrico y se hierve durante un minuto.

#### 5.1.3 Método de combustión con oxígeno en matraz. (Identificación del ión cloruro).

##### 5.1.3.1 Aparatos y equipo

Aparato para combustión con oxígeno en matraz. (Consiste en un matraz cónico para yodo, de paredes gruesas, de 500 ml, a menos que se especifique uno de mayor capacidad. Deberá estar provisto de un tapón de vidrio ajustado, al cual se le ha introducido por fusión, el extremo de un alambre de platino y por el otro extremo lleva soldada una malla de platino de forma adecuada para mantener la muestra a ensayar).

Equipo común de laboratorio.

5.1.3.2 Materiales y reactivos

50 mg de clorhidrato de hidroxocobalamina.

Papel filtro exento de cenizas ó papel filtro Whatman No. 40 ó soportes de papel para la muestra de la casa A. H. Thomas, No. 6471-F.

Carbonato de litio.

Solución absorbente (5 ml de solución 1 N de hidróxido de sodio).

Acido nítrico diluido.

Nitrato de plata 0.1 N.

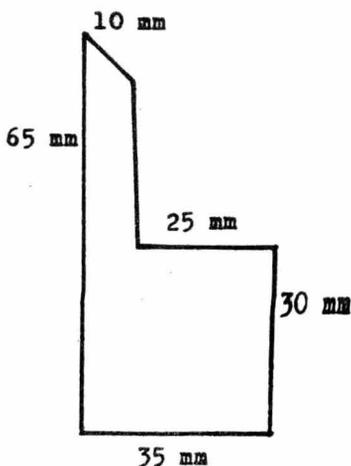
Agua.

Oxígeno gas.

5.1.3.3 Procedimiento

Precaución. Hasta el final de la prueba se deberá proceder con excepcional cuidado; el analista deberá usar anteojos de seguridad y observar una protección adecuada entre él y el aparato. El matraz empleado deberá estar perfectamente limpio y libre de huellas de solventes orgánicos.

Preparación de la muestra. Pesar 50 mg de clorhidrato de hidroxocobalamina y depositarlos en el centro de un papel filtro exento de cenizas, según las dimensiones que muestra la siguiente figura:



El cual deberá estar previamente impregnado en su parte media, con una solución acuosa de carbonato de litio y secado en la estufa. El cuadrado de papel se dobla convenientemente para retener la muestra dejando libre la tira de papel filtro más angosta y se asegura en la malla de platino del matraz correspondiente.

Proceso. Se humedece el cuello del matraz con agua, se deposita el líquido absorbente, que consiste en: 5 ml de solución 1 N de hidróxido de sodio; se elimina el aire mediante una corriente rápida y abundante de oxígeno y se agita el líquido para oxigenarlo. Se enciende el extremo libre de la tira de papel filtro de una manera apropiada e inmediatamente se ajusta el tapón con firmeza. Cuando comienza a arder vigorosamente, el matraz se inclina un poco para evitar que caiga material no combustionado dentro del líquido. Cuando la combustión ha concluido se agita vigorosamente el matraz y se deja reposar durante no menos de diez minutos, agitando lo ocasionalmente. Al contenido del matraz una vez que la combustión ha concluido, se le agregan 5 ml de S. R. de ácido nítrico diluido y 2 ml de solución 0.1 N de nitrato de plata.

#### 5.1.3.4 Interpretación y resultados

Se forma un ligero precipitado blanco que corresponde al ión cloruro.

#### 5.2 Determinación de impurezas coloridas

##### 5.2.1 Método cromatográfico

##### 5.2.2 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

##### 5.2.3 Materiales y reactivos

Clorhidrato de hidroxocobalamina.

Resina IRC 50 forma ácida o equivalente.

Alcohol butílico secundario.

Cianuro de potasio al 1% y al 10% recientemente preparados.

Acido acético glacial.

Papel cromatográfico Whatman No. 1.

Agua.

Cámara cromatográfica.

Microjeringa y aguja.

#### 5.2.4

##### Procedimiento

##### Preparación A.

En un cristizador se deposita aproximadamente 1 ml de resina IRC 50 forma ácida previamente lavada hasta neutralidad. El cristizador se coloca en una campana adecuada y tomando las precauciones necesarias, se agregan sobre la resina 5 ml de solución acuosa al 1% de cianuro de potasio. Se agita y después de cinco minutos se dispone de la cantidad indicada de solución sobrenadante (1 ml).

##### Preparación B.

Se agitan 500 ml de agua con 500 ml de alcohol butílico secundario y se dejan reposar durante 15 horas, entre 25°C y 30°C, agitando de vez en vez. Transcurrido ese tiempo se separa la capa inferior, se le agrega el 1% (v/v) de ácido acético glacial y, tomando las precauciones necesarias, 5 ml de solución acuosa al 10% de cianuro de potasio. Esta solución se utiliza como fase estacionaria.

##### Preparación C.

A la capa superior de la preparación "B" se le agrega 5% (v/v) de alcohol butílico secundario y 1% (v/v) de ácido acético glacial. Se emplea como fase móvil.

##### Procedimiento general.

Se disuelven 50 mg de clorhidrato de hidroxocobalamina por ensayar en 4 ml de agua. Se agrega, gota a gota,

1 ml de la preparación sobrenadante "A" y se deja reposar durante 15 minutos, agitando de vez en vez. En tiras de papel cromatográfico de 55 cm de largo por 19 cm de ancho, se deposita sobre toda la línea previa y finamente trazada con lápiz a 8,5 cm de distancia de los bordes del papel y dejando 1.5 cm de cada lado a lo largo del papel; 0.5 ml de la solución muestra, tratada como antes se indico valiendose de una microjeringa y con las tiras asi preparadas se efectúa una cromatografía descendente, utilizando la preparación "B" como fase estacionaria y la preparación "C" como fase móvil. El tiempo de saturación del papel debe ser, por lo menos, de cuatro horas previo a correr el cromatograma, él cual se retira de la cámara, hasta que la banda principal colorida haya recorrido dos tercios de la longitud total de la hoja. (36.6 cm a partir del extremo superior).

Una vez logrado esto el cromatograma se seca al aire y se separa la banda principal y las bandas correspondientes a las impurezas, que podran ser de mayor o menor polaridad con respecto a la banda principal y por lo tanto pueden estar hacia arriba o hacia abajo de la misma; cortándolas en tiras paralelas a la línea de aplicación. Se elimina la banda principal y con cada banda de impurezas se efectúa, por separado, una cromatografía descendente, empleando papel filtro humedecido que se retira cuando la impureza colorida se extiende hasta el borde inferior. Los cromatogramas se secan al aire y sus extremos coloreados secos, se cortan y se eluyen con agua en un vaso pequeño de precipitados, hasta extraer completamente la impureza colorida, para lo cual la extracción se repite dos o tres veces, utilizando la mínima cantidad de agua. Las porciones eluidas se reunen y se depositan en un matraz volumétrico de 25 ml, filtrándolas si es necesario y se diluye con agua hasta el aforo.

de cuarzo de 1 cm, se mide la absorbancia máxima, a una longitud de onda cercana a 361 nm, utilizando agua destilada y deionizada como blanco.

5.2.5 Cálculos

Se calculan las impurezas coloridas, por medio de la siguiente fórmula:

$$I. C. = \frac{A_u \times D \times 100}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

I. C. = Impurezas coloridas en por ciento.

$A_u$  = Valor de la absorbancia de la solución muestra a la longitud de onda de 361 nm.

D = Dilución en ml (25 ml).

$E = \frac{1\%}{E_1 \text{ cm}} = 207.$

p = Peso de la muestra ensayada expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

5.2.6 Interpretación y resultados

El valor encontrado no deberá ser superior al 3%.

5.3 Determinación de clorhidrato de hidroxocobalamina

5.3.1 Método espectrofotométrico

5.3.2 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro UV-visible.

Equipo común de laboratorio.

5.3.3 Materiales y reactivos

Clorhidrato de hidroxocobalamina.

Agua.

5.3.4 Procedimiento

En un matraz volumetrico de 1000 ml se disuelven 40 mg de clorhidrato de hidroxocobalamina en agua. La solución se diluye con agua hasta el aforo y se mezcla. En un

espectrofotómetro UV-visible, empleando celdillas de cuarzo de 1 cm, se miden las absorbancias máximas de la solución, a una longitud de onda cercana a 351 nm. Se calcula la cantidad, en por ciento, de clorhidrato de hidroxocobalamina en la muestra.

### 5.3.5 Cálculos

Se realizan por medio de la siguiente fórmula:

$$P = \frac{A_u \times D \times 100}{E \times p (100 - h)}$$

Donde:

P = Cantidad de clorhidrato de hidroxocobalamina, en por ciento; en la muestra.

$A_u$  = Valor de la absorbancia de la solución muestra.

D = Dilución de la solución muestra en ml.

$E = E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 190.$

p = Peso de la muestra ensayada expresada en gramos.

(100 - h) = 100 - humedad de la muestra.

### 5.3.6 Interpretación y resultados

El valor encontrado no deberá ser inferior al 96% en base anhidra.

### 5.4 Determinación de pH

Determinar el pH de una solución acuosa de clorhidrato de hidroxocobalamina al 0.2% (P/V), de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-D-14 en vigor.

### 5.5 Determinación de humedad

Se pesan aproximadamente 100 mg de la muestra y se depositan en un pesafiltros. El pesafiltro se introduce en una estufa a la que se aplica vacío menor de 5 mm de mercurio. La temperatura se mantiene entre 100°C y 105°C durante una hora.

5.5.1 Interpretación y resultados

La pérdida de peso es entre 10 y 14 por ciento.

6. Bibliografía

British Pharmacopeia 1973. Págs. 233-234.

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.

Cuarta edición, 1974. Págs. 881-886.

Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana; Octava edición, Volumen II, 1972. Págs. 580-583.

Pro Farmacopea Francesa 1970. Págs. 72-75.

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

YODOCLOROHIDROXIQUINOLEINA

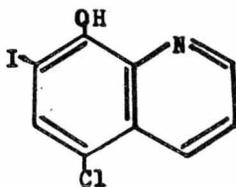
1. Generalidades

Antiamibiano; anti-infeccioso.

1.1 Definiciones

Para los efectos de esta norma se entiende por yodoclorohidroxiquinoleína el producto constituido principalmente por el compuesto químico  $C_9 H_5 Cl I N O$  con peso molecular de 305.50, con nombre químico de 5-cloro-7-iodo-8-quinolinol ó 8-quinolinol, 5-cloro-7-iodo; con aspecto de polvo voluminoso, esponjoso de blanco amarillento a amarillo pardo, con un olor ligeramente característico. Se oscurece cuando se expone a la luz. Su punto de fusión es de  $180^{\circ}C$  con descomposición.

Fórmula desarrollada:



1.2 Alcance

Esta norma se aplica a yodoclorohidroxiquinoleína.

2. Clasificación

El producto objeto de ésta norma se clasifica en un sólo tipo y grado de calidad.

3. Especificaciones

3.1 Del producto

La yodoclorohidroxiquinoleína objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla 1.

T A B L A I	
Yodoclorohidroxiquinoleína.	
Características:	Especificaciones:
Identificación en I. R.	Pasa la prueba.
Identificación.	De acuerdo a los métodos de prueba.
Contenido de yodoclorohidroxiquinoleína (en base anhidra).	No menos de 93% ni más de 100.5%.
Humedad.	No más de 0.5% de su peso.
Solubilidad.	Practicamente insoluble en agua y alcohol. Soluble en acetato de etilo caliente y en ácido acético glacial.
Residuos a la ignición.	No más de 0.5%.

### 3.2 Marcado

#### 3.2.1 En el envase y empaque

En el envase exterior y entre las dos bolsas que forman el envase, debe aparecer una etiqueta en caracteres legibles y redactados en español los siguientes datos: Símbolo del fabricante, nombre del producto, peso neto expresado en kilogramos o gramos, número de lote, la leyenda "Hecho en México", la leyenda "consérvese el envase herméticamente cerrado y protegido de la luz" y cualquier otro dato que se juzgue conveniente, tales como precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los empaques y envases durante su transporte y almacenamiento y el sello oficial de garantía, cuando la Secretaría de Industria y Comercio

lo juzgue conveniente.

3.3 Envasado y empaque

El producto objeto de esta norma se debe envasar en doble bolsa de polietileno, o cualquier otro material cuyas características sean tales que no reaccione con el producto, cerradas por separado y a su vez éstas en cuñetes de capacidad y material adecuados para que resistan su transporte y almacenamiento.

4. Muestreo

El muestreo se efectúa de común acuerdo entre fabricante y comprador y a falta de este acuerdo se recomienda seguir el siguiente método:

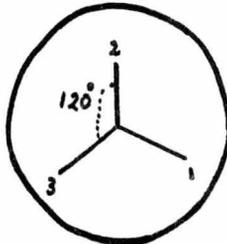
4.1 Método de muestreo para producto terminado a granel

4.1.1 Equipo

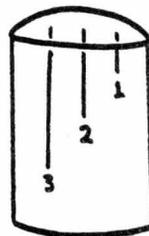
Guantes de hule con superficies exteriores lisas.  
Muestreador de acero inoxidable pulido, de 1/2" de diámetro con ventanas por lo menos de 1/3 parte de la circunferencia; completo de tubo interior de cierre.  
Bolsas de polietileno u otro material adecuado.

4.1.2 Manera de operar

Por medio del muestreador sacar producto de cada cuñete elegido al azar (según la tabla II) en 3 puntos diferentes dispuestos a  $\pm 120^\circ$  uno de otro y a tres diferentes alturas según el esquema siguiente:



Planta.



Sección.

4.1.3 Muestreo de aceptación

4.1.4 Lote

Deberá estar constituido por la cantidad de recipientes llenos, motivo de la transacción comercial.

4.1.5 Lotes de prueba

El lote de prueba está formado por el total de unidades de producto de un mismo grado de calidad.

4.1.6 Lote de muestra

Debe estar formado por el número de muestras tomadas al azar (según 4.1.2) de acuerdo a lo establecido en la tabla II (n).

T A B L A II

Tamaño del lote (N).	Tamaño de muestra. (n)	Muestreo de aceptación	Rechazo (Re)
		Aceptación (Ac)	
2 a 8	2	0	1
9 a 15	3	0	1
16 a 25	5	0	1
26 a 50	8	0	1
51 a 90	13	0	1
91 a 150	20	0	1
151 a 280	32	0	1
281 a 500	50	0	1
501 a 1200	80	0	1
1201 a 3200	125	0	1
3201 a 10000	200	0	1
10001 a 35000	315	0	1
35001 a 150000	500	0	1
150001 a 500000	800	0	1
500001 a más	1250	0	1

4.1.7 Unidad de producto

Se considera unidad de producto, un cuñete lleno de cualquier capacidad.

4.1.8 Procedimiento

Se separa el lote en lotes de prueba de acuerdo con 4.1.5, del número de unidades de producto que constituyen el lote de prueba (N) se toma una muestra al azar (según 4.1.2) constituida por "n" unidades de producto (tamaño de muestra (n)) a cada una de éstas se les extrae una cantidad necesaria; la cual se dividirá en tres partes proporcionales, que se envasarán en recipientes cerrados de polietileno o vidrio y son: una para el productor, otra para casos de tercera y la tercera para los análisis; los cuales estarán debidamente rotulados. Con la tercera parte se procede a verificar su calidad, haciendo uso de los métodos oficiales de prueba.

4.1.9 Criterio de aceptación

Cuando el número de unidades de producto que no cumplan con una o varias de las especificaciones de esta norma, sea igual o menor al número de aceptación, se acepta el lote.

Si el número de unidades del producto que no cumplan con una o varias de las especificaciones que esta norma indica, es igual o mayor al número de rechazo, el lote de prueba se rechaza.

5. Métodos de prueba

Los reactivos que se mencionen en todas las determinaciones siguientes, deben ser grado analítico, a menos que se mencione otra cosa; cuando se indique agua debe entenderse agua destilada y el patrón de referencia será el patrón oficial.

5.1 Procedimiento para la identificación de yodoclorohidroxiquinoleína

5.1.1 Método espectrofotométrico

5.1.1.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro infrarrojo.

Equipo común de laboratorio.

5.1.1.2 Materiales y reactivos

Solución patrón.

Solución de estudio.

5.1.1.3 Preparación de la solución patrón

Disolver exactamente 50 mg del patrón de referencia de yodoclorohidroxiquinoleína USP que ha sido previamente secado durante 5 horas en pentóxido de fósforo, disolver en un poco de disulfuro de carbono en un matraz aforado de 10 ml, llevando al volumen y mezclar.

5.1.1.4 Preparación de la solución de estudio

Transferir exactamente 50 mg de yodoclorohidroxiquinoleína que ha sido previamente secado durante 5 horas en pentóxido de fósforo, a un matraz aforado de 10 ml y disuélvalo y diluya hasta el aforo con disulfuro de carbono y mezclelo.

5.1.1.5 Procedimiento

Con la solución patrón y la solución de estudio se llenan las celdas de 3 mm y se colocan en un espectrofotómetro y determinar el espectro de absorbancia infrarroja, comprendido entre las longitudes de onda de 7 a 15  $\mu\text{m}$ .

5.1.1.6 Interpretación y resultados

Los máximos de las longitudes de onda de ambas soluciones deben ser superponibles o al menos concordar en los siguientes máximos de longitud de onda: 1400, 1340, 1270, 1200, 950, 800 y 830.

5.1.2 Método químico

5.1.2.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

- 5.1.2.2 Materiales y reactivos  
Yodoclorohidroxiquinoleína.  
Acido sulfúrico.
- 5.1.2.3 Procedimiento  
Calentar 100 mg de yodoclorohidroxiquinoleína con 5 ml de ácido sulfúrico.
- 5.1.2.4 Interpretación y resultados  
Se desprenden gran cantidad de vapores de yodo color violeta.
- 5.1.3 Método espectrofotométrico
- 5.1.3.1 Aparatos y equipo  
Espectrofotómetro UV-visible.  
Equipo común de laboratorio.
- 5.1.3.2 Materiales y reactivos  
Acido clorhídrico diluido (1 a 4).  
Yodoclorohidroxiquinoleína USP. RS.  
Yodoclorohidroxiquinoleína.
- 5.1.3.3 Procedimiento  
Leer en un espectrofotómetro UV-visible una solución 1:200 000 de yodoclorohidroxiquinoleína en ácido clorhídrico diluido (1 a 4); así como el patrón de referencia de yodoclorohidroxiquinoleína USP. RS., preparado en forma idéntica; las cuales exhiben un máximo y un mínimo a las mismas longitudes de onda medidos en forma similar, y las absorbancias respectivas calculadas en bases secas en el punto de máxima absorbancia que se presenta alrededor de 267 nm, no difieren por más de 3 por ciento.
- 5.1.4 Método de cromatografía en capa fina
- 5.1.4.1 Aparatos y equipo  
Cámara cromatográfica.  
Microjeringa y aguja.  
Placas de 20 x 20 cm.

Aplicador de Desaga ó equivalente.

Agitador magnético.

Estufa.

Lámpara de luz ultravioleta (2660 Å).

Equipo común de laboratorio.

5.1.4.2 Materiales y reactivos

Yodoclorohidroxiquinoleína.

Yodoclorohidroxiquinoleína USP. RS.

Poliamida Merck.

Sulfato de calcio.

Acetona.

Dimetilformamida.

Metanol.

Agua.

5.1.4.3 Preparación de las placas

Pesar 1 g de sulfato de calcio, agregar 50 ml de acetona y agitar durante algunos segundos. Agregar 10 g de poliamida Merck y 5 ml de agua destilada homogeneizando perfectamente. La muestra se aplica sobre 5 placas de 20 por 20 cm. Se dejan secar a la temperatura ambiente y se activan a 80°C durante 15 minutos.

5.1.4.4 Preparación del standar

Pesar 100 mg de yodoclorohidroxiquinoleína USP. RS., y disolver en 10 ml de la mezcla de dimetilformamida-metanol (1:2) calentando ligeramente.

5.1.4.5 Preparación de la muestra

Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de yodoclorohidroxiquinoleína. Pasarlos a un vaso de precipitados de 250 ml. Agregar 100 ml de acetona, agitar magnéticamente y calentar suavemente a baño María.

Dejar enfriar a la temperatura ambiente y filtrar a través de papel filtro, enjuagando el vaso con varias por-

ciones de acetona. Evaporar la acetona en baño María. Disolver el residuo en 10 ml de una mezcla de dimetilformamida-metanol (1:2) calentado ligeramente.

5.1.4.6 Procedimiento

Aplicar sobre las placas de poliamida de 5 a 10  $\mu$ l de la solución standar y la muestra por ensayar. Introducir la placa en una cámara cromatográfica que previamente ha sido saturada con metanol; la cámara cromatográfica se cubre, y se deja ascender el solvente hasta una altura de 15 cm aproximadamente.

Se sacan las placas y se secan al aire, los compuestos se detectan mediante luz ultravioleta (2660 Å).

5.1.4.7 Interpretación y resultados

Aparecen manchas para la muestra y el standar idénticas a un Rf de 0.63 aproximadamente.

5.2 Pérdida por secado

La yodoclorohidroxiquinoleína secada durante 5 horas sobre pentóxido de fósforo no pierde más del 0.5 por ciento de su peso.

5.3 Residuo a la ignición

El límite es de 0.5 por ciento.

5.4 Determinación de iodo y ioduros libres

5.4.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.4.2 Materiales y reactivos

Yodoclorohidroxiquinoleína.

Agua.

Acido sulfúrico diluido.

S. R. de dicromato de potasio.

Yoduro de potasio.

Cloroformo.

5.4.3

Procedimiento

Agítese 1 g de yodoclorohidroxiquinoleína con 20 ml de agua destilada durante 30 segundos, déjese reposar durante 5 minutos y fíltrese. A 10 ml del filtrado agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 2 ml de cloroformo y agítese. No debe aparecer color violeta en el cloroformo (yodo libre). A la mezcla agreguese 5 ml de ácido sulfúrico diluido y 1 ml de S. R. de dicromato de potasio, y agítese durante 15 segundos. El color en la capa de cloroformo no debe ser más fuerte que el que se produce en una prueba testigo hecha de la siguiente manera: Diluyase 2 ml de solución de yoduro de potasio (1:6000) a 10 ml de agua destilada, agregar 6 ml de ácido sulfúrico diluido, más 1 ml de S. R. de dicromato de potasio y 2 ml de cloroformo y agítese durante 15 segundos ( 0.05 por ciento de yoduro).

5.5

Contenido de Yodo y Cloro

5.5.1

Aparatos y equipo

Potenciómetro.

Equipo común de laboratorio.

Aparato para combustión con oxígeno en matraz. (Consiste en un matraz cónico para yodo, de paredes gruesas, de 500 ml, a menos que se especifique una de mayor capacidad. Deberá estar provisto de un tapón de vidrio ajustado, al cual se le ha introducido por fusión, el extremo de un alambre de platino y por el otro extremo lleva soldada una malla de platino de forma adecuada para contener la muestra para analizar).

5.5.2

Materiales y reactivos

Yodoclorohidroxiquinoleína.

Hidróxido de sodio.

Solución saturada de bioxido de azufre.

Solución buffer aceto-acética.

Acetona.

Detergente no iónico (éter de paranonil fenil polietilenglicol).

Nitrato de plata.

Agua.

Oxígeno gas.

### 5.5.3 Procedimiento (combustión con oxígeno en matraz)

Precaución. Hasta el final de la prueba se deberá proceder con excepcional cuidado; el analista deberá usar anteojos de seguridad y observar una protección adecuada entre él y el aparato. El matraz deberá estar perfectamente limpio y libre de huellas de solventes orgánicos.

Preparación de la muestra. Pesar exactamente 20 mg de yodoclorohidroxiquinolefina en un papel filtro libre de haluros, de 4 cm por lado. Se dobla para formar un pequeño paquete, se le inserta el extremo de una tira de papel filtro y se asegura la muestra en la malla de platino.

Proceso. Se humedece el cuello del matraz con agua, se deposita el líquido absorbente (una mezcla de 5 ml de solución de hidróxido de sodio 1:100 y 3 ml de una solución saturada de bioxido de azufre), se elimina el aire mediante una corriente rápida y abundante de oxígeno y se agita el líquido para oxigenarlo. Se enciende el extremo libre de la tira de papel filtro de una manera apropiada e inmediatamente se ajusta el tapón con firmeza. Cuando comienza a arder vigorosamente, el matraz se inclina un poco para evitar que caiga material no combustionado dentro del líquido. Cuando la combustión ha concluido se agita vigorosamente el matraz y se deja reposar durante no menos de 10 minutos, agitándolo ocasionalmente.

Después que se haya completado la combustión enjuague con agua el tapón y el portamuestra juntando el agua del lavado en un vaso de 100 ml. Transferir el contenido del frasco al vaso con la ayuda de cuatro porciones de 5 ml de solución buffer preparada disolviendo 13.61 gramos de acetato de sodio en 50 ml de agua y agregándole 6 ml de ácido acético glacial, diluyendo a 100 ml con agua. Agregue 25 ml de acetona y una gota de un detergente no iónico adecuado tal como éter de paranonil fenil polietilenglicol. Titule el yodo y el cloro usando una microbureta marcada a intervalos de 0.01 ml con nitrato de plata 0.1 N, determinando los puntos finales potenciométricamente utilizando un electrodo de plata y un electrodo de referencia de sulfato de potasio-sulfato mercurioso. Agite la solución cuidadosamente durante la titulación. Anote el volumen de nitrato de plata 0.1 N agregado y la fuerza electromotriz observada después de cada incremento, y gráfique en papel milimétrico los valores observados de fuerza electromotriz contra volumen de nitrato de plata 0.1 N agregado. Continúe la titulación hasta los puntos de inflexión, uno de los cuales deberá presentarse entre 430 y 410 milivolts y otro entre 185 y 160 milivolts. Cada mililitro de nitrato de plata 0.1 N que se consume en llegar al primer punto de inflexión es equivalente a 12.69 mg de yodo y cada mililitro consumido para llegar del primer punto de inflexión al segundo es equivalente a 3.545 mg de cloro.

5.5.4 Interpretación y resultados

No menos de 11.0 ni más de 12.2 por ciento de cloro y entre 40 y 42 por ciento de yodo.

5.6 Determinación de la concentración de yodoclorohidroxi-quinoleína

5.6.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro infrarrojo.  
Equipo común de laboratorio.

5.6.2 Materiales y reactivos

Solución patrón (véase 5.1.1.3).  
Solución de estudio (véase 5.1.1.4).  
Disulfuro de carbono.

5.6.3 Procedimiento

Determinar simultáneamente las absorbancias de la solución patrón y la solución de estudio, tomando un promedio de no menos de 5 lecturas y anotaciones de cada solución en una celda de 3 mm, a una longitud de onda de 14.4 y 14.9  $\mu\text{m}$  en un espectrofotómetro infrarrojo, empleando disulfuro de carbono como blanco.

Obtener un promedio de ambas lecturas y calcular la cantidad en mg de  $\text{C}_9 \text{H}_5 \text{ClINO}$  en la porción de yodoclorohidroxiquinoleína, aplicando la siguiente fórmula:

$$10 C \left[ \frac{A_u}{A_s} \right]$$

Donde:

C = Concentración en mg/ml del patrón de referencia de yodoclorohidroxiquinoleína USP.

$A_u$  y  $A_s$  = Es la diferencia entre el promedio de absorbancias de la solución de estudio de yodoclorohidroxiquinoleína y de la solución patrón respectivamente a las dos longitudes de onda especificadas.

6. Bibliografía

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.  
Cuarta Edición, 1974. Págs. 76-1179-1180.

Korzun, B. P., Brody, S. M., y Tishler F.: Thin-layer chromatography of Iodochlorhydroxyquin; Journal of Pharmaceutical Sciences. 53, 976 (1964).

National Formulary XIV. Págs. 356-357.

Urbányi, T., Sloniewsky, D., y Tishler, F.; Quantitative Determination of Iodochlorhydroxyquin by Infrared Analysis; Journal of Pharmaceutical Sciences. 55, 730 (1966).

U. S. P. XVIII. Págs. 338-339.

## ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

### DIYODOHIDROXIQUINOLEINA

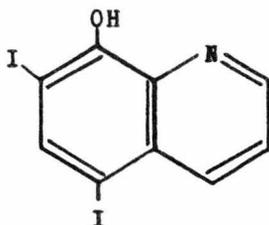
#### 1. Generalidades

Antiamibiano.

#### 1.1 Definiciones

Para los efectos de esta norma se entiende por diyodohidroxiquinoleína el producto constituido principalmente por el compuesto químico  $C_9H_5I_2NO$  con peso molecular de 396.95, con nombre químico de 8-quinolinol-5,7 diiodo ó 5,7 diiodo-8-quinolinol; con aspecto de polvo microcristalino blanco amarillento a color canela que se humedece fácilmente con el agua. Inodoro o con un olor ligero, es estable en el aire y se funde con descomposición. Prácticamente insoluble en agua; y poco soluble en alcohol y éter.

Fórmula desarrollada:



#### 1.2 Alcance

Esta norma se aplica a diyodohidroxiquinoleína.

#### 2. Clasificación

El producto objeto de ésta norma se clasifica en un sólo tipo y grado de calidad.

#### 3. Especificaciones

3.1 Del producto

La diyodohidroxiquinoleína objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla 1.

T A B L A 1	
Diyodohidroxiquinoleína.	
Características:	Especificaciones:
Identificación I. R.	Pasa la prueba.
Contenido de diyodohidroxiquinoleína (en base anhidra).	Mínimo 96% Máximo 100.5%.
Identificación.	De acuerdo al método de prueba.
Humedad	No más de 0.5% de su peso.
Residuos a la ignición.	No más de 0.5%.
Solubilidad.	Practicamente insoluble en agua; y ligeramente soluble en alcohol y éter.

3.2 Marcado

3.2.1 En el envase y empaque

En el empaque exterior y entre las dos bolsas que forman el envase, debe aparecer una etiqueta de caracteres legibles y redactados en español los siguientes datos: Símbolo del fabricante, nombre del producto, peso neto expresado en kilogramos o gramos, número de lote, la leyenda "Hecho en México", la leyenda "consérvese el envase herméticamente cerrado" y cualquier otro dato que se juzgue conveniente, tales como precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los empaques y envases durante su transporte y almacenamiento y el sello

oficial de garantía, cuando la Secretaría de Industria y Comercio lo juzgue conveniente.

3.3 Envasado y empaçado

El producto objeto de esta norma se debe envasar en doble bolsa de polietileno, o cualquier otro material cuyas características sean tales que no reaccione con el producto, cerradas por separado y a su vez éstas en cuñetes de capacidad y material adecuados para que resistan su transporte y almacenamiento.

4. Muestreo

El muestreo se efectúa de común acuerdo entre fabricante y comprador y a falta de este acuerdo se recomienda seguir el siguiente método:

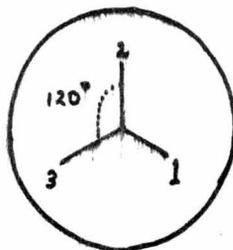
4.1 Método de muestreo para producto terminado a granel

4.1.1 Equipo

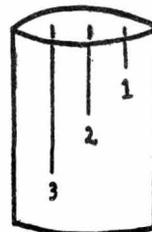
Guantes de hule con superficies exteriores lisas.  
Muestreador de acero inoxidable pulido, de 1/2" de diámetro con ventanas por lo menos de 1/3 parte de la circunferencia; completo de tubo interior de cierre.  
Bolsas de polietileno u otro material adecuado.

4.1.2 Manera de operar

Por medio del muestreador sacar producto de cada cuñete elegido al azar (según la tabla II) en 3 puntos diferentes dispuestos a  $\pm 120^\circ$  uno de otro y a tres diferentes alturas según el esquema siguiente:



Planta.



Sección.

4.1.3 Muestreo de aceptación

4.1.4 Lote

Deberá estar constituido por la cantidad de recipientes llenos, motivo de la transacción comercial.

4.1.5 Lote de prueba

El lote de prueba está formado por el total de unidades de producto de un mismo grado de calidad.

4.1.6 Lote de muestra

Debe estar formado por el número de muestras tomadas al azar (según 4.1.2) de acuerdo a lo establecido a la tabla II (n).

T A B L A II

Tamaño del lote (N).	Tamaño de muestra (n).	Muestreo de aceptación	
		Aceptación (Ac).	Rechazo (Re).
2 a 8	2	0	1
9 a 15	3	0	1
16 a 25	5	0	1
26 a 50	8	0	1
51 a 90	13	0	1
91 a 150	20	0	1
151 a 280	32	0	1
281 a 500	50	0	1
501 a 1200	80	0	1
1201 a 3200	125	0	1
3201 a 10000	200	0	1
10001 a 35000	315	0	1
35001 a 150000	500	0	1
150001 a 500000	800	0	1
500001 a más	1250	0	1

4.1.7 Unidad de producto

Se considera unidad de producto, un cuñete lleno de cualquier capacidad.

4.1.8 Procedimiento

Se separa el lote en lotes de prueba de acuerdo con 4.1.5, del número de unidades de producto que constituye el lote de prueba (N) se toma una muestra al azar (según 4.1.2) constituida por "n" unidades de producto (tamaño de muestra (n)) a cada una de éstas se les extrae una cantidad necesaria; la cual se dividirá en 3 partes proporcionales, que se envasarán en recipientes cerrados de polietileno o vidrio y son: una para el productor, otra para casos de tercería y la tercera para los análisis; los cuales estarán debidamente rotulados. Con la tercera parte se procede a verificar su calidad, haciendo uso de los métodos oficiales de prueba.

4.1.9 Criterio de aceptación

Cuando el número de unidades de producto que no cumplan con una o varias de las especificaciones de esta norma, sea igual o menor al número de aceptación, se acepta el lote.

Si el número de unidades del producto que no cumplan con una o varias de las especificaciones de esta norma, es igual o mayor al número de rechazo, el lote de prueba se rechaza.

5. Métodos de prueba

Los reactivos que se mencionen en todas las determinaciones siguientes, deben ser grado analítico, a menos que se mencione otra cosa; cuando se indique agua debe entenderse agua destilada y el patrón de referencia será el patrón oficial.

5.1 Procedimiento para la identificación de diyodohidroxi quinoleína

5.1.1 Método espectrofotométrico

5.1.1.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro infrarrojo.  
Equipo común de laboratorio.

5.1.1.2 Materiales y reactivos

Disulfuro de carbono.  
Diyodohidroxiquinoleína.  
Diyodohidroxiquinoleína USP, RS.

5.1.1.3 Procedimiento

Preparar una solución 1:200 en disulfuro de carbono, calentando si es necesario para completar la dilución: La absorción en el espectro infrarrojo de esta solución en celda de cloruro de sodio de 3 mm, usando disulfuro de carbono como blanco, en la región de 7 a 11  $\mu\text{m}$ , exci-be su absorción máxima y mínima solamente a las mismas longitudes de onda que una solución similar de diyodo-hidroxiquinoleína de referencia USP, medida en forma si multánea.

5.1.2 Método químico

5.1.2.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.1.2.2 Materiales y reactivos

Diyodohidroxiquinoleína.  
Acido sulfúrico.

5.1.2.3 Procedimiento

Caliente una pequeña cantidad de diyodohidroxiquinoleína con un mililitro de ácido sulfúrico.

5.1.2.4 Interpretación y resultados

Se desprenden vapores violeta de yodo.

5.1.3 Método de cromatografía en capa fina

5.1.3.1 Aparatos y equipo

Cámara cromatográfica.  
Microjeringa y aguja.

Placas de 20 x 20 cm.  
Aplicador de Desaga ó equivalente.  
Agitador magnético.  
Estufa.  
Lámpara de luz ultravioleta (2660 Å).  
Equipo común de laboratorio.

5.1.3.2 Materiales y reactivos

Diyodohidroxiquinoleína.  
Diyodohidroxiquinoleína USP. RS.  
Poliamida Merck.  
Sulfato de calcio.  
Acetona.  
Dimetilformamida.  
Metanol.  
Agua.

5.1.3.3 Preparación de las placas

Pesar 1 g de sulfato de calcio, agregar 50 ml de acetona y agitar durante algunos segundos. Agregar 10 g de poliamida Merck y 5 ml de agua destilada homogeneizando perfectamente. La muestra se aplica sobre 5 placas de 20 por 20 cm. Se dejan secar a la temperatura ambiente y se activan a 80°C durante 15 minutos.

5.1.3.4 Preparación del standar

Pesar 50 mg de diyodohidroxiquinoleína USP. RS., y disolver en 10 ml de una solución de dimetilformamida-metanol (1:2), calentando ligeramente hasta completa disolución.

5.1.3.5 Preparación de la muestra

Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de diyodohidroxiquinoleína. Pasarlos a un vaso de precipitados de 250 ml. Agregar 100 ml de acetona, agitar magnéticamente y calentar suavemente a baño María.

Dejar enfriar a la temperatura ambiente y filtrar a través de papel filtro, enjuagando el vaso con varias por-

ciones de acetona. Evaporar la acetona en baño María. Disolver el residuo en 10 ml de una mezcla de dimetilformamida-metanol (1:2) calentando ligeramente.

5.1.3.6 Procedimiento

Aplicar sobre las placas de poliamida de 5 a 10  $\mu$ l de la solución standar y la muestra por ensayar. Introducir la placa en una cámara cromatográfica que previamente ha sido saturada con metanol; la cámara cromatográfica se cubre, y se deja ascender el solvente hasta una altura de 15 cm aproximadamente.

Se sacan las placas y se secan al aire, los compuestos se detectan mediante luz ultravioleta (2660 Å).

5.1.3.7 Interpretación y resultados

Aparecen manchas para la muestra y el standar idénticas a un Rf de 0.50 aproximadamente.

5.2 Pérdida por secado

Cuando se seca sobre gel sílica durante 4 horas pierde no más de 0.5 por ciento de su peso.

5.3 Residuo por ignición

No más del 0.5 por ciento.

5.4 Determinación de yodo y yoduros libres

5.4.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

5.4.2 Materiales y reactivos

Acido sulfúrico diluido.

Cloroformo.

S. R. de dicromato de potasio.

Yoduro de potasio.

Agua.

5.4.3 Procedimiento

Agitar un gramo de la muestra con 20 ml de agua destila-

da durante 30 segundos, dejar reposar durante 5 minutos y filtrar. A 10 mililitros del filtrado añadase 1 ml de ácido sulfúrico diluido, luego adicionar 2 ml de cloroformo y agitar. No debe aparecer color violeta en el cloroformo (yodo libre). A la mezcla agregue 5 ml de ácido sulfúrico diluido y 1 ml de S. R. de dicromato de potasio y agitar durante 15 segundos. El color de la capa de cloroformo no debe ser más fuerte que el que se produce en una prueba testigo hecha de la siguiente manera: Diluir 2 ml de solución de yoduro de potasio (1:6000) con agua a 10 ml con agua destilada, agregar 6 ml de ácido sulfúrico diluido, más 1 ml de S. R. de dicromato de potasio y 2 ml de cloroformo y agitar durante 15 segundos (0.05 por ciento de yoduro).

5.5 Valoración de diyodohidroquinoleína

5.5.1 Aparatos y equipo

Equipo común de laboratorio.

Aparato para combustión en matraz de oxígeno. (Consiste en un matraz cónico para yodo, de paredes gruesas, de 500 ml, a menos que se especifique uno de mayor capacidad. Deberá estar provisto de un tapón de vidrio ajustado, al cual se le ha introducido por fusión, el extremo de un alambre de platino y por el otro extremo lleva soldada una malla de platino de forma adecuada para contener la muestra para analizar).

5.5.2 Materiales y reactivos

Solución de hidróxido de sodio (1:100).

Solución de bisulfito de sodio (1:100).

Solución oxidante (5 ml de bromo en 100 ml de una solución de acetato de sodio 1:10 de ácido acético glacial).

Acido fórmico.

Nitrógeno (gas).

Solución de ácido sulfúrico diluido.

Solución de tiosulfato de sodio 0.02 N

Almidón.

Agua.

Oxígeno (gas).

### 5.5.3

#### Procedimiento

Precaución. Hasta el final de la prueba se deberá proceder con excepcional cuidado; el analista deberá usar anteojos de seguridad y observar una protección adecuada entre él y el aparato. El matraz deberá estar perfectamente limpio y libre de huellas de solventes orgánicos.

Preparación de la muestra. Pesar exactamente 14 mg de diyodohidroxiquinoleína en un papel filtro libre de haluros, de 4 cm por lado. Se dobla para formar un pequeño paquete, se le inserta el extremo de una tira de papel filtro y se asegura la muestra en la malla de platino.

Proceso. Se humedece el cuello del matraz con agua, se deposita el líquido absorbente (una mezcla de 10 ml de solución de hidróxido de sodio 1:100 y 1 ml de solución de bisulfito de sodio recién preparado 1:100), se elimina el aire mediante una corriente rápida y abundante de oxígeno y se agita el líquido para oxigenarlo. Se enciende el extremo libre de la tira de papel filtro de una manera apropiada e inmediatamente se ajusta el tapón con firmeza. Cuando comienza a arder vigorosamente, el matraz se inclina un poco para evitar que caiga material no combustionado dentro del líquido. Cuando la combustión ha concluido se agita vigorosamente el matraz y se deja reposar durante no menos de 10 minutos, agitándolo ocasionalmente.

Después que se ha completado la combustión, ponga unos cuantos mililitros de agua alrededor del tapón del frag

co, quite el tapón y luego enjuague lo junto con el porta muestra y las paredes del frasco con alrededor de 20 ml de agua, agregados en porciones pequeñas. Agregue 1 ml de una solución oxidante preparada mediante la adición de 5 ml de bromo a 100 ml de una solución de acetato de sodio 1:10 de ácido acético glacial. Ponga el tapón en el frasco y agite vigorosamente durante un minuto. Agregue 0.5 ml de ácido fórmico, quite el tapón y enjuague lo, también enjuague el portamuestra y las paredes del frasco con varias porciones pequeñas de agua. Burbujeé nitrógeno a través del frasco para quitar el oxígeno y el exceso de bromo, agregue 500 mg de yoduro de potasio, agitar para disolver y agregar 3 ml de la solución de ácido sulfúrico diluido, agítese para mezclarlo, déjese reposar durante dos minutos; titular con tiosulfato de sodio 0.02 N agregando 3 ml de S. R. de almidón al aproximarse el punto final de la titulación.

5.5.4 Interpretación y resultados

Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0.02 N es equivalente a 0.6616 mg de diyodohidroxiquinoleína.

5.6 Valoración de diyodohidroxiquinoleína (método del metanol ácido)

5.6.1 Aparatos y equipo

Espectrofotómetro.

Equipo común de laboratorio.

5.6.2 Materiales y reactivos

Acido clorhídrico.

Metanol anhidro.

Metanol ácido.

Diyodohidroxiquinoleína.

Diyodohidroxiquinoleína USP. RS.

5.6.3 Preparación del metanol ácido

Tomar 10 ml de ácido clorhídrico y llevar a un matraz vo

lumétrico de 1000 ml, aforar con metanol anhidro.

5.6.4 Preparación de la muestra

Pesar con exactitud una cantidad equivalente a 50 mg de diyodohidroxiquinoleína, llevar a un matraz volumétrico de 100 ml, disuelva con aproximadamente 50 ml de metanol ácido, calentar hasta completa disolución de la muestra, dejar enfriar a la temperatura ambiente y aforar con la solución de metanol ácido. Tomar una alícuota de 5 ml de esta solución y llevarlos a un matraz volumétrico de 25 ml, aforar con solución de metanol ácido.

5.6.5 Preparación del standar de diyodohidroxiquinoleína

Preparar un standar de diyodohidroxiquinoleína USP. RS. a la misma concentración (50 mg), empleando la misma técnica que para la muestra.

5.6.6 Procedimiento

Determinar las absorbancias de ambas soluciones a una longitud de onda de 390 nm, usando como blanco una solución de metanol ácido.

5.6.7 Cálculos

Se efectúan por medio de la siguiente fórmula:

$$C = \frac{A_s}{A_u} \times 100$$

Donde:

C = Concentración de la muestra en por ciento.

A<sub>s</sub> = Absorbancia del standar a una longitud de onda de 390 nm.

A<sub>u</sub> = Absorbancia de la muestra por ensayar a una longitud de onda de 390 nm.

5.6.8 Interpretación y resultados

Si la absorbancia del standar es igual a 0.69, el por ciento de la muestra es igual a 100.

6.

Bibliografía

Cervantes Ortiz, Carmen; Estudio comparativo de diferentes métodos espectrofotométricos para la determinación cuantitativa de 5,7-diiodo-8-hidroxiquinoleína. TESIS. 1972.

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. Cuarta edición, 1974. Pág. 76.

Korzun, B. P., Brody, S. M., y Tishler F.; Thin-layer Chromatography of Iodochlorhydroxyquin; Journal of Pharmaceutical Sciences. 53, 976 (1964).

U. S. P. XIX. Pág. 150.

U. S. P. XVIII. Pág. 201.