



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA
PARA: CLOXACILINA SODICA MONOHIDRATADA,
DICLOXACILINA SODICA MONOHIDRATADA,
AMOXICILINA TRIHIDRATADA Y ESTEARATO DE
ERITROMICINA

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
Mauro Arrieta Sánchez

MEXICO, D. F.

1977



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.



CLAS. Tesis 1977
ABO. M-29
FECHA _____
PROG. _____



QUIMICA

REGISTRO DE TESIS

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLÓGICO

México, Distrito Federal

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. MARTHA ENRIQUEZ LOPEZ.
2do. Suplente	Q.F.B. JESUS H. JARA FARJEAT.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorios Sanfer, S.A.

Sustentante:

MAURO ARRIETA SANCHEZ.

Asesor del tema:

Q.F.B. BICE V. NOVI AVILA.

Mi más sincero agradecimiento y
respetos a todas las personas
que hicieron posible la reali-
zación de este trabajo:

Al H. Jurado.

Q.F.B. RAMON ULACIA ESTEVE.

Q.F.B. ETELVINA MEDRANO DE JAIMES.

Q.F.B. BICE V. NOVI AVILA.

Q.F.B. MARTHA ENRIQUEZ LOPEZ.

Q.F.B. JESUS H. JARA FARJEAT.

III

A la Srta. Q.F.B. Bice V. Novi
Avila, Responsable de los Labo-
ratorios Sanfer, S.A., sin cuya
cooperación y ayuda no hubiera
sido posible la realización de
este tema de tesis.

Mi más sincero agradecimiento a
Laboratorios Sanfer, S.A., por
las facilidades otorgadas en el
desarrollo de este tema de tesis.

Con agradecimiento y cariño para
quienes han sido todo, mis padres:
Leandro y Luz María.

Con todo respeto
y cariño a mis
hermanos.

VI

Con todo cariño y

respeto a

Ma. Teresa.

VII

Con respeto a
mis maestros
y
amigos.

C O N T E N I D O

Cap. del Tema.

- I.- INTRODUCCION.
- II.- ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PARA
CLOXACILINA SODICA MONOHIDRATADA.
- III.- ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PARA
DICLOXACILINA SODICA MONOHIDRATADA.
- IV.- ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PARA
AMOXICILINA TRIHIDRATADA.
- V.- ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PARA
ESTEARATO DE ERITROMICINA.

CAPITULO I

INTRODUCCION

Por decreto presidencial el 8 de octubre de 1975, se crea la Comisión Nacional consultiva para el Desarrollo de la Industria Farmacéutica.

Debido a esto y al incremento de la población y dado al gran empleo de antibióticos, se ha visto que es necesario establecer una normalización adecuada que se armonice con el avance tecnológico de la industria. La normalización no es un invento actual, es una necesidad de crear un orden altamente organizado.

Con las normas se establecen especificaciones, servicios y procesos de fabricación de los productos, los que serán útiles en beneficio de un incremento en la productividad, ya que con el establecimiento de las normas se ayuda a mejorar la producción en lo que concierne a calidad, cantidad, costos y seguridad de un producto, fomentando así el comercio Nacional, lo que traerá como consecuencia satisfactoria una economía dentro del país, reflejándose más tarde en una ampliación de mercados quizá también a nivel internacional.

El Gobierno Mexicano visualizando esta situación, y por medio de la Dirección General de Normas de la Secretaría de Industria y Comercio (DGN), que es el organismo encargado de coordinar a los diferentes sectores que poseen interés en presentar proyectos para establecer normas, así como engendrar una política adecuada en materia de Normalización Industrial.

En este mismo capítulo optaremos por definir algunos conceptos -

para entender y distinguir el concepto de norma y normalización, y la relación de estas con otros conceptos.

I.- Definición de norma y normalización:

Primeramente se definirá el concepto de normalización de acuerdo con STACO (Comité para el estudio de los principios científicos de la normalización) que propuso la creación de la Organización Internacional de Normalización (The International Organization for Standardization, ISO.), a la que pertenece como miembro la Dirección General de Normas (DGN); y a continuación la definición de norma, o sea que primero tiene lugar la acción, el proceso y después su reconocimiento, debido a esto primero se aprobó en 1961 la definición de Normalización y en 1962 la de Norma.

"La normalización es el proceso de formular y aplicar reglas con el propósito de realizar un orden en una actividad específica, para el beneficio y con la cooperación de los intereses y en particular para obtener en conjunto una economía óptima, tomando en cuenta las características funcionales y los requisitos de seguridad".

Se basa en los resultados de la ciencia, la tecnología y la experiencia. Determina las bases para el desarrollo futuro y por lo tanto debe actualizarse con el progreso.

Aplicaciones particulares:

- a.- Unidades de medida.
- b.- Terminología y representación simbólica.
- c.- Productos y procesos (Definir y seleccionar las características de productos, métodos de prueba y de medición, especificación de las características de los productos para definir su

calidad, regulación de variedades, intercambiabilidad, etc.).

d.- Seguridad de las personas y de los bienes.

"Una norma es el resultado de una gestión particular de norma lización y probada por una autoridad reconocida".

Puede tomar la forma de:

a.- Un documento que contenga un conjunto de condiciones para que sean cumplidas.

b.- Una unidad fundamental o una constante física. (Ejem. cero ab soluto, amperio, etc.).

c.- Un objeto para comparación física. (Ejem. Metro, Kilogramo).

Definición desde el punto de vista etimológico:

Normalización proviene de Norma, cuyo significado en latín es: una regla a la que se adapta voluntariamente una actividad.

La Real Academia la define como: "Norma es una regla que se-- guir o a que se deben ajustar operaciones".

Definición adoptada por México, según la Ley General de Nor-- mas y de Pesas y Medidas en su artículo 4o. que define Norma In-- dustrial como:

"El conjunto de especificaciones en que se define, clasifica y califica un material, producto o procedimiento, para que satis-- faga las necesidades y usos a que esta destinado".

II.- Definición de control de calidad y su relación entre Norma:

Desde el punto de vista etimológico, el término control viene del francés Cont - rol; Cont significa confrontar y Rol que - significa norma; así contro se define como la confrontación o comparación con una norma.

Contro de calidad se define como:

"Un conjunto de esfuerzos efectivos de los diferentes de--

XII

partamentos de una organización para la integración del desarrollo, mantenimiento y superación de la calidad de un producto, con el fin de hacer posible fabricación y servicio a satisfacción completa del consumidor y a un nivel más económico"

De la definición se observa que los requisitos de calidad del consumidor por lo general se encuentran establecidos en una norma, la que en muchas ocasiones recibe el nombre de especificaciones.

De lo anterior se desprende que una norma y el control de calidad, individualmente son parte de un todo. En la norma se fijan las características significativas de calidad y mediante el control de calidad se asegura que la producción cumpla con las características indicadas en la norma.

En pocas palabras existe una relación estrecha entre la norma y el control de calidad, sin normas el control de calidad no puede efectuarse y sin control de calidad las normas no se pueden aplicar.

III.- Definición de especificación.

"Es 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.

De tal manera que las especificaciones no son otra cosa que los requisitos de calidad que se encuentran establecidos en las Normas.

C A P I T U L O I I

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

"CLOXACILINA SODICA MONOHIDRATADA"

DGN-39-4-V-1

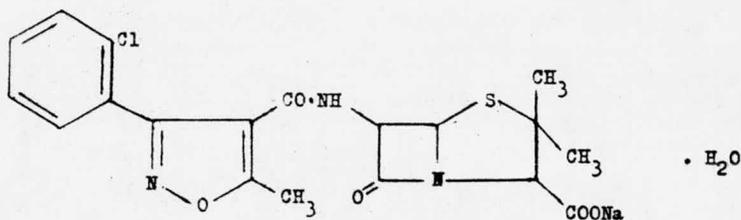
1. Generalidades.

Antibiótico perteneciente al grupo de las penicilinas semisintéticas.

1.1 Definiciones.

Para los efectos de esta norma se entiende por cloxacilina sódica monohidratada el producto constituido principalmente por el compuesto químico $C_{19} H_{17} Cl N_3 Na O_5 S \cdot H_2 O$ con peso molecular de 475.89 con nombre químico de monohidrato de la sal sódica de 5-metil-3-(o-clofenil)-4-isoxazolil penicilina; con aspecto de polvo blanco cristalino o ligeramente amarillento, intenso sabor amargo, con ligero olor característico y libre de materias extrañas visibles.

Fórmula desarrollada:



1.2 Alcance.

La presente norma se aplica a la cloxacilina sódica monohidratada estéril y no estéril.

2. Clasificación.

El producto objeto de esta norma se clasifica en dos grados de calidad:

Grado A Cloxacilina sódica monohidratada estéril

Grado B Cloxacilina sódica monohidratada no estéril.

3. Especificaciones.

3.1 Del producto.

La cloxacilina sódica monohidratada en sus dos grados de calidad objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla I.

T A B L A I

Características	Cloxacilina sódica monohidratada Especificaciones	
	Grado A estéril	Grado B no estéril
Identificación I.R.	Pasa la prueba	Pasa la prueba
Potencia	No menos de 825.0 mcg de cloxacilina por mg.	No menos de 825.0 mcg de cloxacilina por mg.
Contenido de cloro	7.0 a 7.5 por ciento	7.0 a 7.5 por ciento
pH (En sol. acuosa 1.0 por ciento P/V)	4.5 a 7.5	4.5 a 7.5
Agua	3.0 a 5.0 por ciento	3.0 a 5.0 por ciento
Cristalinidad	Presenta birrefringencia a la luz polarizada	Presenta birrefringencia a la luz polarizada
Toxicidad anormal	Pasa la prueba	Pasa la prueba
Esterilidad	Pasa la prueba	----- o -----
Pirógenos	Pasa la prueba	----- o -----

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 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 bien cerrado y en lugar fresco y seco", potencia o equivalente en actividad (En -- Cloxacilina) 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.

3.3.1 En Producto Estéril.

El producto estéril objeto de esta norma se debe envasar en recipientes estériles de aluminio o vidrio, herméticamente cerrados, los recipientes deben ser abiertos solamente en áreas estériles bajo condiciones de asepsia.

3.3.2 En Producto no estéril.

El producto objeto de esta norma se debe envasar en doble bolsa de polietileno o cualquier material cuyas características sean tales que no reaccionen con el producto no estéril, cerradas por separado y a su vez estas 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.

Gautes de hule con superficies exteriores lisas.

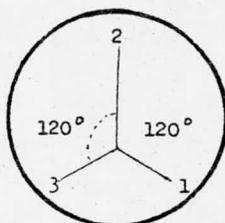
Muestreador de acero inoxidable pulido, de 1/2 pulgada de diámetro con ventanas por lo menos de una tercera parte de la circunferencia; completo de tubo interior de cierre.

Bolsas de polietileno, frascos de vidrio u otro material adecuado.

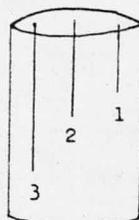
El equipo anterior, pero en condiciones estériles, para producto a granel estéril.

4.1.2 Manera de operar.

Por medio del muestreador sacar producto de cada cuñete en tres puntos diferentes dispuestos a $\pm 120^\circ$ uno del otro y a tres diferentes alturas según el esquema siguiente:



PLANTA



SECCION

De cada cuñete tomar aproximadamente 30.0 gr de producto y ponerlos en bolsas de polietileno marcadas con el número del cuñete y el número de lote. Cerrar los cuñetes con un oportuno cierre de garantía. De cada bolsa de polietileno pesar partes proporcionales al peso neto declarado en la etiqueta del cuñete correspondiente y transferirlas en otra bolsa de polietileno. Mezclar hasta completa homogeneidad. Esta muestra oficial se dividirá en dos partes: una destinada al archivo (Cantidad aproximada 100.0 gr) y la otra destinada al análisis. En el caso de que el lote se ponga en prueba de estabilidad, se reparará una tercera porción del producto en frascos ampula de 20 ml (20 frascos conteniendo cada uno 1.0 gr de producto debidamente rotulados y cerrados).

Para producto estéril se procede de la misma manera pero en condiciones estériles, dentro de una área estéril y máximas condiciones de asepsia.

4.2 Criterio de aceptación.

El criterio de aceptación es 100 por ciento.

5. Métodos de prueba.

Los reactivos que se mencionan en todas las determinaciones siguen--

tes, 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 cloxacilina sódica monohidratada.

5.1.1 Aparatos y equipo.

Espectrofotómetro infrarrojo

Equipo común de laboratorio.

5.1.2 Materiales y reactivos.

Bromuro de potasio grado espectro

Patrón de referencia.

5.1.3 Procedimiento.

Preparar una tableta con una mezcla al 0.5 por ciento de cloxacilina sódica monohidratada en bromuro de potasio.

Colocar la tableta en el espectrofotómetro y determinar el espectro — de absorbancia infrarrojo, comprendido entre las longitudes de onda — de 2 a 15 micrones.

5.1.4 Interpretación de resultados.

El espectro de absorción de la muestra debe compararse cualitativamente con el espectro de absorción del patrón de referencia preparado en condiciones idénticas.

5.2 Determinación de potencia.

5.2.1 Método microbiológico.

5.2.1.1 Aparatos y equipo.

Horno para esterilizar

Autoclave

Incubadora

Fotocolorímetro con filtro para 580 milimicras

Botella de Roux

Cajas Petri de 20 X 100 mm

Tapas de porcelana y vidriadas por fuera, para las cajas Petri

Cilindros de acero inoxidable con un diámetro exterior de 8.0 mm — (+ 0.1 mm) y un diámetro interior de 6.0 mm (+ 0.1 mm) con una altura de 10.0 mm (+ 0.1 mm)

Escala graduada con décimas de milímetro
Equipo común de laboratorio.

5.2.1.2 Materiales y reactivos.

Patrón de referencia

Solución reguladora de fosfatos de potasio 1.0 por ciento pH 6.0 —
(Fosfato de potasio dibásico: 2.0 gr. Fosfato de potasio monobásico:
8.0 gr; agua destilada c.b.p. 1000 ml)

Cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P)

Medio antibiótico No. 1 (BBL 10936/7 o Difco 0263) Preparado de a—
cuerdo con las indicaciones del fabricante

Medio antibiótico No. 2 (BBL 10942/3 o Difco 0270) Preparado de a—
cuerdo con las indicaciones del fabricante

Solución salina esterilizada (Cloruro de sodio: 8.5 gr; agua destila—
da c.b.p. 1000 ml).

5.2.1.3 Preparación de la solución patrón.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente —
pesada de patrón de referencia de cloxacilina sódica monohidratada,
equivalente a 100.0 mg de cloxacilina disolver y aforar con solución
reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento pH 6.0 (Concentra—
ción estimada: 1.0 mg de cloxacilina por ml). Transferir 10.0 ml de
la solución anterior a un matraz aforado de 100.0 ml y diluir con so—
lución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento pH 6.0 hasta —
el aforo (Concentración estimada: 100.0 mcg de cloxacilina por ml).

5.2.1.4 Preparación del microorganismo de prueba.

Cultivar la cepa de *Staphylococcus aureus* en tubos con 10.0 ml de —
medio antibiótico No. 1 inclinado, incubar a 32 - 35°C durante 24 —
horas. Lavar el desarrollo de un tubo con 3.0 ml de solución salina
esterilizada. Pasar esta suspensión de microorganismos a una botella
de Roux conteniendo 250.0 ml de medio antibiótico No. 1 Extender la
suspensión en toda la superficie del medio con ayuda de perlas de vi—
drio esterilizadas, incubar la botella de Roux 24 horas a 32 - 35°C.
Lavar el crecimiento resultante con 50.0 ml de solución salina este—
rilizada. Diluir esta suspensión de tal manera que una dilución 1:20
de ella, de una transmisión de 25 por ciento en un fotocolorímetro —
con un filtro a 580 milimicras y un tubo de 13.0 mm de diámetro. Ha—
cer placas de prueba para determinar la cantidad de suspensión que —

debe añadirse a 100.0 ml de medio (Generalmente 0.1 ml) para dar zonas de inhibición claras y definidas de tamaño apropiado.

5.2.1.5 Preparación de las placas.

Preparar las placas el mismo día que se van a usar. Colocar 21.0 ml de medio antibiótico No. 2 en cada caja Petri, extender el medio uniformemente y dejar solidificar. Fundir la cantidad necesaria de medio antibiótico No. 1 y enfriar a 48 - 50°C, añadir la cantidad necesaria de la suspensión de Staphylococcus aureus según las experiencias de la preparación del microorganismo de prueba y mezclar para obtener una suspensión homogénea. Añadir a cada caja Petri 4.0 ml de medio inoculado y distribuirlo uniformemente, cubrirlas con las tapas de porcelana y dejar solidificar. Cuando el medio ha solidificado colocar 6 cilindros en la superficie del agar inoculado a intervalos de 60 grados aproximadamente sobre un radio de 2.8 cm.

5.2.1.6 Preparación de la curva patrón.

Preparar las siguientes diluciones a partir de la solución patrón de 100.0 mcg/ml usando solución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento pH 6.0

3.20 ml a 100.0 ml (3.20 mcg/ml)

4.00 ml a 100.0 ml (4.00 mcg/ml)

5.00 ml a 100.0 ml (5.00 mcg/ml)

6.25 ml a 100.0 ml (6.25 mcg/ml)

7.81 ml a 100.0 ml (7.81 mcg/ml)

Usar 4 series de 3 cajas Petri cada una.

Serie 1: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 3.20 mcg/ml

Serie 2: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 4.00 mcg/ml

Serie 3: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 6.25 mcg/ml

Serie 4: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 7.81 mcg/ml

Llenar los 3 cilindros restantes de cada caja, con dilución patrón de 5.00 mcg/ml

Incubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las 36 lectu-

ras de la dilución patrón de 5.0 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de cada dilución patrón. Corregir las lecturas de cada una de las series 1, 2, 3 y 4, aumentando o disminuyendo la misma diferencia que exista entre el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 5.00 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de esa misma dilución en cada serie. Ejemplo: Si el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 5.00 mcg/ml es de 16.5 mm y el promedio de esta dilución en la serie 4 es 16.3 mm, la corrección será 0.20 mm. Si el promedio de lecturas de la dilución de concentración más alta de esas mismas 3 cajas es de 16.9 mm, el diámetro corregido es entonces de 17.1 mm. Graficar los diámetros corregidos, incluyendo el promedio de los 36 diámetros de la concentración de referencia en papel semilogarítmico de dos ciclos, usando la concentración del antibiótico en mcg/ml como la ordenada y el diámetro de las zonas de inhibición como la abscisa. La curva patrón puede también obtenerse calculando los valores máximo y mínimo por medio de las siguientes ecuaciones:

$$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5} \qquad H = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$$

Donde:

L = Diámetro de la zona calculado para la concentración más baja de la curva.

H = Diámetro de la zona calculado para la concentración más alta de la curva.

c = Promedio del diámetro de la zona de 36 lecturas del punto de referencia de la solución patrón de 5.00 mcg/ml

a = Valor promedio corregido para la dilución de 3.20 mcg/ml

b = Valor promedio corregido para la dilución de 4.00 mcg/ml

d = Valor promedio corregido para la dilución de 6.25 mcg/ml

e = Valor promedio corregido para la dilución de 7.81 mcg/ml

5.2.1.7 Procedimiento.

Preparar la solución problema en la misma forma que la solución patrón (5.2.1.3), haciendo al final otra dilución de 5.0 ml a 100.0 ml con la misma solución reguladora para tener una concentración estimada de 5.0 mcg/ml de cloxacilina base. Usar 3 placas preparadas como se indica en (5.2.1.5). Llenar 3 cilindros alternados de cada placa con dilución patrón de 5.0 mcg/ml y los otros 3 cilindros con dilución problema. In--

cubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las lecturas de la solución patrón y el de las lecturas de la solución problema. Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor mayor que el promedio de la solución patrón, agregar la diferencia al diámetro de la dilución de 5.0 mcg/ml en la curva patrón. Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor menor que el promedio de lecturas de la solución patrón, restar esta diferencia al diámetro de la dilución de 5.0 mcg/ml en la curva patrón. Leer en la curva la concentración correspondiente a estos valores corregidos de diámetros de las zonas. Multiplicar la concentración por el factor de dilución apropiado para obtener el contenido de antibiótico en la muestra.

5.2.2 Método químico (Ensayo yodométrico).

5.2.2.1 Aparatos y equipo.

Agitador magnético

Matraces de yodo

Equipo común de laboratorio.

5.2.2.2 Materiales y reactivos.

Patrón de referencia

Solución de tiosulfato de sodio 0.01 N (Tiosulfato de sodio pentahidratado: 2.482 gr; carbonato de sodio: 0.125 gr; agua destilada c.b. p. 1000 ml).

Hidróxido de sodio 1.0 N

Acido clorhídrico 1.2 N

Solución de yodo 0.01 N (Preparada de solución de yodo 0.1 N U.S.P.)

Solución de pasta de yoduro de almidón, (U.S.P. XVIII - 1031). S.R.

5.2.2.3 Preparación de la solución patrón y solución problema.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente pesada de patrón de referencia de cloxacilina sódica monohidratada, equivalente a 125.0 mg de cloxacilina y aforar con agua destilada para obtener una concentración final de: 1.25 mg/ml de cloxacilina.

Preparar la solución problema de la misma forma que la solución patrón, para obtener una concentración final estimada: 1.25 mg/ml de cloxacilina.

5.2.2.4 Procedimiento.

Inactivación de las soluciones patrón y problema.

Transferir 2.0 ml de la solución problema y de la solución patrón a un matraz de yodo respectivamente. Adicionar 2.0 ml de hidróxido de sodio 1.0 N y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después de este tiempo adicionar 2.0 ml de ácido clorhídrico 1.2 N, añadir 10.0 ml de solución de yodo 0.01 N, tapar los matraces y dejar reposar durante 15 minutos y proceder a titular el exceso de yodo como se indica a continuación.

Determinación del blanco: transferir 2.0 ml tanto de solución problema como de solución patrón a un matraz de yodo respectivamente. Adicionar 10.0 ml de solución de yodo 0.01 N a cada matraz y proceder a titular.

Titulación: Titular el exceso de yodo usando tiosulfato de sodio 0.01 N, tanto de las soluciones inactivadas como de los blancos de referencia. Hacia el final de la titulación adicionar una gota de una solución de pasta de yoduro de almidón. Continuar la titulación por adición de porciones de 0.01 a 0.02 ml más de tiosulfato de sodio 0.01 N agitando después de cada adición. El punto final de la titulación se alcanza cuando desaparece el color azul intenso debido al complejo yodo-almidón.

5.2.2.5 Cálculos.

Determinar el factor F (microgramos de actividad equivalentes a cada mililitro de tiosulfato de sodio 0.01 N consumidos):

$$F = \frac{W_s \times P}{V_s}$$

Donde:

W_s = Peso real en miligramos de patrón de referencia de cloxacilina - sódica monohidratada en los 2.0 ml titulados.

P = Potencia del patrón de referencia en microgramos por miligramo de cloxacilina.

V_s = Mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación de la solución patrón de referencia inactivada menos los mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación del blanco de la solución patrón de referencia. (La diferencia es el equivalente del número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por el patrón de referencia inactivado).

Potencia del antibiótico:

Calcular la potencia del problema en microgramos por miligramo de cloxacilina, por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{mcg por mg} = \frac{V_p \times F}{W_p}$$

Donde:

V_p = Mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación de la solución problema inactivada menos los mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación del blanco de la solución problema. (La diferencia es el equivalente del número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por la solución problema inactivada).

W_p = Peso real en miligramos del problema en los 2.0 ml titulados.

5.3 Determinación del contenido de cloro.

5.3.1 Aparatos y equipo.

Crisoles de níquel.

Equipo común de laboratorio.

5.3.2 Materiales y reactivos

Papel tornasol

Algodón

Carbonato de sodio anhidro

Acido nítrico

Nitrato de plata 0.1 N

Tiocianato de amonio 0.1 N

Solución de sulfato férrico de amonio (Dissolver 8.0 gr de sulfato férrico de amonio en agua para hacer 100.0 ml).

5.3.3 Procedimiento.

Mezclar 0.25 gr de muestra con cantidades pequeñas pero sucesivas de carbonato de sodio anhidro en un pequeño crisol de níquel, cuando el crisol se haya llenado hasta las tres cuartas partes, seguir adicionando carbonato de sodio anhidro sin mezclar y presionando hacia abajo para que quede compacto. Invertir el crisol dentro de otro crisol de níquel más grande que contenga en el fondo una capa de carbonato de sodio anhidro y continuar adicionando carbonato de sodio anhidro entre los dos crisoles presionando bien hasta que quede sellada la unión de los mismos. Calentar durante 45 minutos sobre una flama de

Bunsen de tal manera que la parte exterior del crisol este uniformemente caliente hasta un rojo débil; dejar enfriar, pasar a un vaso con 200.0 ml de agua, cubrir el vaso y calentar suavemente hasta que todo el carbonato se disuelva. Filtrar a través de una torunda de algodón, lavar el residuo con agua, enfriar, agregar ácido nítrico hasta que la solución este neutra al papel tornasol y agregar 3.0 ml en exceso. Hervir para remover el dióxido de carbono, enfriar, adicionar 25.0 ml de nitrato de plata 0.1 N, dejar reposar unos minutos, filtrar y lavar el filtro con agua. Titular el filtrado y los lavados combinados con tiocianato de amonio 0.1 N, usar solución de sulfato férrico de amonio como indicador. Repetir la operación sin cloxacilina sódica monohidratada como blanco; la diferencia entre las titulaciones representan la cantidad de nitrato de plata requerida.

5.3.4 Cálculos:

Calcular el contenido de cloro en la muestra, considerando que cada mililitro de nitrato de plata 0.1 N es equivalente a 0.003545 gr de cloro.

5.4 Determinación de pH.

Determinar el pH de una solución acuosa de cloxacilina sódica monohidratada al 1.0 por ciento, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-D-14 en vigor.

5.5 Determinación del contenido de agua.

Hacer la determinación del contenido de agua en una muestra aproximadamente de 200.0 mg por el método de Karl Fisher, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-K-119-1965.

5.6 Prueba de cristalinidad.

5.6.1 Aparatos y equipo.

Microscopio con luz polarizada

Equipo común de laboratorio.

5.6.2 Reactivos.

Aceite mineral.

5.6.3 Procedimiento.

Mezclar en un porta-objetos una pequeña cantidad de la muestra con una o dos gotas de aceite mineral. Cubrir el porta-objetos y observar al microscopio polarizado.

5.6.4 Interpretación de resultados.

Los cristales de cloxacilina sódica monohidratada, muestran partículas en las cuales se observa el fenómeno de birrefringencia y posiciones de extinción por movimiento circular del porta-objetos.

5.7 Prueba de toxicidad anormal.

5.7.1 Aparatos y equipo

Autoclave

Equipo común de laboratorio.

5.7.2 Materiales y reactivos.

Ratones blancos de 18.0 a 25.0 gr no usados previamente en otra prueba similar.

Agua destilada estéril: (Preparada con agua recientemente destilada. Esterilizada en autoclave a 121°C durante 20 minutos).

5.7.3 Procedimiento.

Inyectar intravenosamente a 5 ratones, 0.5 ml de una solución que contenga 16.0 mg de actividad de cloxacilina por ml en agua destilada estéril. La inyección debe hacerse en un período de tiempo entre 5 y 10 segundos; observar los ratones durante 48 horas.

5.7.4 Interpretación de resultados.

Si ningún animal muere en el período de observación de 48 horas la muestra pasa la prueba. Si uno o más animales mueren dentro de las 48 horas, repetir la prueba una o más veces, usando para cada prueba cinco o más ratones con un peso de 20.0 gr (\pm 0.5 gr) cada uno; si el total de muertes dentro de las 48 horas no es mayor del 10 por ciento del número total de animales probados, incluyendo la prueba original, la muestra pasa la prueba.

5.8 Prueba de esterilidad.

5.8.1 Aparatos y equipo

Equipo de filtros membrana para prueba de esterilidad de 3 o 6 unidades.

Membranas filtrantes de 0.45 micras

Campana de flujo laminar

Autoclave
Potenciómetro
Tubos para cultivo con tapa
Cortadores y pinzas para membrana
Equipo común de laboratorio.

5.8.2 Materiales y reactivos.

Peptona (BBL 11919; o Difco 0118-01-8)
Solución de peptona: (Disolver 1.0 gr de peptona en suficiente agua -
destilada para hacer 1000 ml, ajustar el pH a 7.1 ± 0.1 , si es nece-
sario con HCl 2.0 N ó NaOH 2.0 N)
Medio fluido de tioglicolato (BBL 11260; o Difco 0256-01-0)
Medio digerido de soya y caseína (BBL 11768; o Difco 0370-01-1)
Penicilinas 20,000 U.L./ml : (Preparada por dilución de Penase BBL --
11899; o Difco 0346)
Agar micológico (BBL 11445; o Difco 0405-01-0)
Agar soya tripticasa (BBL 11043; o Difco 0369).

5.8.3 Procedimiento.

Armar un equipo de filtración de 3 o 6 unidades con sus filtros mem--
brana y filtros hidrofóbicos según instrucciones del fabricante y pre-
pararlo para su esterilización.

Esterilizar en autoclave todo el equipo a 121°C ; de 20 a no más de -
45 minutos. EL TIEMPO Y LA TEMPERATURA SON CRITICOS. Los filtros mem-
brana pueden ser esterilizados aparte, pero da mejor resultado y me--
nos riesgo de contaminación si se esterilizan ya en la unidad.

Los cortadores y pinzas deben ser esterilizados en calor seco a 250°C
por un mínimo de una hora.

Preparar y limpiar la campana de flujo laminar y en condiciones asép-
ticas pasar todo el material que se va a utilizar para la prueba, co-
nectarla y dejar un tiempo de 10 a 15 minutos.

Tomar una muestra asépticamente de 6.0 gr que debe contener de todos
y cada uno de los recipientes que forman un lote, transferir a un -
matraz Erlenmeyer de 500 ml que contenga 200.0 ml de peptona esteri-
lizada y a temperatura ambiente, agitar para disolver bien.

Empezar a filtrar asépticamente usando un filtro como testigo. Si la
filtración se dificulta o es muy tardada se deberá repetir esa muestra.

Lavar el filtro con 200 ml de peptona que deberá contener 1.0 ml de
penicilinas, finalmente hacer pasar 400 ml más de peptona.

A todos y cada uno de los tubos que contienen tioglicolato y soya -- tripticasa se les agrega 1.0 ml de penicilinas en condiciones asépticas para inactivar cualquier residuo de penicilina que pudiera haber quedado.

Tomar la membrana con unas pinzas y colocarla en el cortador, poniendo la parte central dentro de un tubo que contenga medio fluido de -- tioglicolato. Colocar la parte exterior dentro de un tubo conteniendo medio digerido de soya y caseína. Repetir esto con el testigo.

Exponer una caja Petri con agar micológico y otra con agar soya tripticasa durante la prueba, incubar durante 4 días y observar su crecimiento para seguridad de que el área donde se efectuó la prueba fué -- una área estéril.

Incubar los tubos con tioglicolato por 7 días, a 30 - 32°C (Medio para bacterias) y los tubos con soya caseína a 22 - 25°C por 7 días (Medio para hongos).

5.8.4 Interpretación de resultados.

Se dice que el lote o muestra pasa la prueba si después de 7 días de -- incubación, no muestra crecimiento ningún tubo.

Si se observa crecimiento, deberá repetirse la prueba con el doble de muestra y si el crecimiento es en un solo medio, colocar la membrana completa en este medio.

Si en los dos ensayos hay crecimiento, la muestra no pasa la prueba.

5.9 Prueba de pirógenos.

5.9.1 Aparatos y equipo.

Termómetro clínico

Autoclave

Jeringas y agujas libres de pirógenos (Para dejarlas libres de pirógenos, calentarlas a 250°C por no menos de 30 minutos o por cualquier -- otro método apropiado).

5.9.2 Materiales y reactivos.

Conejos sanos y tranquilos con un peso no menor de 1800.0 gramos, cada uno de los cuales debe ser mantenido en su peso con una dieta libre de antibióticos durante un mínimo de una semana e individualmente en un área de temperatura uniforme (+ 3°C) y libre de perturbaciones que fácilmente los exciten. No usar los animales frecuentemente o -- antes de dos semanas subsiguientes a una prueba calificada como pirrogénica.

Agua destilada estéril libre de pirógenos (Recientemente destilada y esterilizada en autoclave a 121°C y por no menos de 20 minutos y que pase la prueba de pirógenos).

5.9.3 Procedimiento.

El día de la prueba suspender todo el alimento a los animales que van a ser usados hasta después de terminada, excepto la administración de agua.

Determinar la temperatura "control" de cada animal por inserción del termómetro en el recto del animal de prueba a una profundidad de no menos de 7.5 cm y manteniéndolo suficiente tiempo para alcanzar una máxima temperatura, como fué determinada previamente, antes de tomar las lecturas.

En cualquier prueba usar solo aquellos animales cuyas "temperaturas control" no se desvíen por más de 1°C de cada una de las otras y no se use ningún animal con una temperatura que exceda de 39.8°C .

La temperatura control registrada para cada conejo constituye la temperatura para calcular cualquier elevación subsecuente, después de la inyección de la muestra problema.

Preparar una solución conteniendo 20.0 mg de actividad de cloxacilina por ml en agua destilada estéril y libre de pirógenos e inyectar una dosis de prueba, de 1.0 ml de la muestra diluida por cada kilogramo de peso de conejo, en la vena marginal de la oreja de cada uno de los tres conejos y a los 30 minutos subsecuentes a las lecturas de la temperatura control; anotar las temperaturas a 1, 2, y 3 horas subsecuentes a la inyección.

5.9.4 Interpretación de resultados.

Si los conejos no muestran un incremento individual de temperatura de 0.6°C o más de su respectiva temperatura control y si la suma de los incrementos de temperatura (de los tres) no excede de 1.4°C la muestra pasa la prueba.

Si uno o dos conejos muestran una elevación de temperatura de 0.6°C o más; o si la suma de los incrementos de temperatura excede de 1.4, - repetir la prueba usando 5 conejos. Si no más de 3 de los 8 conejos - muestran incrementos individuales de temperatura de 0.6°C o más, o si la suma de esas elevaciones de temperatura no excede de 3.7°C , la muestra pasa la prueba.

6. Bibliografía.

Federal Register, Vol. 39, No. 105 - Mayo 30, 1974 - 440.15

British Pharmacopeia 1973 - Pag 117

London Her Majesty's Stationery Office

United States Pharmacopeia XIX

1975 Pags. 98-99

United States Pharmacopeia XVIII

1970 Pags 620

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos

Cuarta edición, 1974 Pags. 674-676

The United States Dispensatory

Arthur Osol - Robertson Pratt

Vigesima septima edición

J.B. Lippincott Company. Philadelphia. Toronto.

Pags 328, 815-818 y 853

AMA Drug Evaluations.

Segunda edición

Publishing Sciences Group. Inc.

Acton, Massachusetts. Pag 517

Specifications For the Quality Control of Pharmaceutical Preparations,

Segunda edición. International Pharmacopeia.

World Health Organization.

Geneva 1967 Pags. 125-126.

Remington's Pharmaceutical Sciences

Décima cuarta edición, 1970

Mack Publishing Company

Easton, Pennsylvania. Pags. 1226-1227.

08j

C A P I T U L O I I I

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

"DICLOXACILINA SÓDICA MONOHIDRATADA"

DGN-39-4-V-2

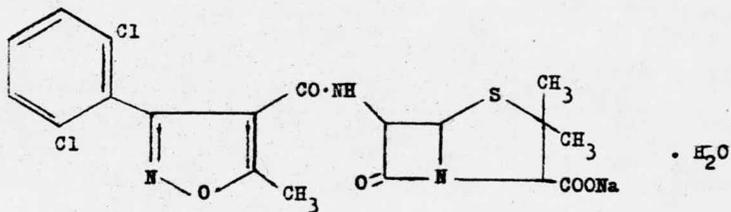
1. Generalidades.

Antibiótico perteneciente al grupo de las penicilinas semisintéticas.

1.1 Definiciones.

Para los efectos de esta norma se entiende por dicloxacilina sódica - monohidratada el producto constituido principalmente por el compuesto químico $C_{19} H_{16} Cl_2 N_3 Na O_5 S \cdot H_2O$ con peso molecular de 510.35, con nombre químico de monohidrato de la sal sódica de 5-metil-3-(2, 6-diclorofenil)-4-isoxazolil penicilina; con aspecto de polvo blanco o ligeramente amarillento, cristalino, de intenso sabor amargo, olor característico y libre de materias extrañas visibles.

Formula desarrollada:



1.2 Alcance.

La presente norma se aplica a la dicloxacilina sódica monohidratada - estéril y no estéril.

2. Clasificación.

El producto objeto de esta norma se clasifica en dos grados de calidad:

Grado A Dicloxacilina sódica monohidratada estéril.

Grado B Dicloxacilina sódica monohidratada no estéril.

3. Especificaciones.

3.1 Del producto.

La dicloxacilina sódica monohidratada en sus dos grados de calidad objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones de la tabla I

T A B L A I

Características	Dicloxacilina sódica monohidratada Especificaciones	
	Grado A estéril	Grado B no estéril
Identificación I.R.	Pasa la prueba	Pasa la prueba
Potencia	No menos de 850.0 mcg de dicloxacilina por mg.	No menos de 850.0 mcg de dicloxacilina por mg.
Contenido de cloro orgánico	13.0 a 14.2 por ciento	13.0 a 14.2 por ciento
Contenido de cloro libre	Máximo 0.5 por ciento	Máximo 0.5 por ciento
pH (En solución acuosa 1.0 por ciento P/V)	4.5 a 7.5	4.5 a 7.5
Agua	3.0 a 5.0 por ciento	3.0 a 5.0 por ciento
Cristalinidad	Presenta birrefringencia a la luz polarizada	Presenta birrefringencia a la luz polarizada
Toxicidad anormal	Pasa la prueba	Pasa la prueba
Esterilidad	Pasa la prueba	----- o -----
Pirógenos	Pasa la prueba	----- o -----

3.2 Marcaje.

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 con 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 "Conservese el envase bien cerrado y en lugar fresco y seco", potencia o equivalente en actividad (En dicloxacilina) 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 Invasado y empackado.

3.3.1 En producto estéril.

El producto objeto de esta norma se debe envasar en recipientes estériles de aluminio o vidrio, herméticamente cerrados e identificados, los recipientes deben ser abiertos solamente en áreas estériles y bajo condiciones asépticas.

3.3.2 En producto no estéril.

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

4. Muestreo.

El muestreo se efectuará 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.

Cuantes de hule con superficies lisas.

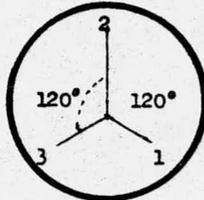
Muestrador de acero inoxidable pulido, de 1/2 de pulgada de diámetro - con ventanas por lo menos de una tercera parte de la circunferencia; - completo de tubo interior de cierre.

Bolsas de polietileno, frascos de vidrio u otro material adecuado.

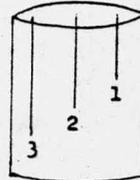
El equipo anterior, pero en condiciones estériles, para producto a —
granel estéril.

4.1.2 Manera de operar.

Por medio del muestreador sacar producto de cada cuñete en tres pun—
tos diferentes dispuestos a 120° uno del otro y a tres diferentes al
turas según el esquema siguiente:



PLANTA



SECCION

De cada cuñete tomar aproximadamente 30.0 gr de producto y ponerlos en
bolsas de polietileno u otro material adecuado y marcadas con el núme—
ro de cuñete y el número de lote. Cerrar los cuñetes con un oportuno —
cierre de garantía.

De cada muestra pesar partes proporcionales al peso neto declarado en
la etiqueta del cuñete correspondiente y transferirlas a otra bolsa de
polietileno u otro material adecuado. Mezclar hasta completa homogenei—
dad.

Esta muestra oficial se dividirá en dos partes: Una destinada al archi—
vo (Cantidad aproximada 100.0 gr) y la otra destinada al análisis. En
el caso de que el lote se ponga en prueba de estabilidad, se repartirá
una tercera porción del producto en frascos ampula de 20 ml (20 fras—
cos conteniendo cada uno 1.0 gr de producto debidamente rotulados y —
cerrados).

Para producto estéril se procede de la misma manera pero en condicio—
nes estériles, dentro de una área estéril y máximas condiciones asepti—
cas.

4.2 Criterio de aceptación.

El criterio de aceptación es de 100 por ciento.

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 el patrón de referencia será el patrón oficial.

- 5.1 Procedimiento para la identificación de Dicloxacilina sódica monohidratada.
- 5.1.1 Aparatos y equipo.
Espectrofotómetro infrarrojo
Equipo común de laboratorio.
- 5.1.2 Materiales y reactivos.
Bromuro de potasio grado espectro
Patrón de referencia.
- 5.1.3 Procedimiento.
Preparar una tableta con una mezcla al 1.0 por ciento de dicloxacilina sódica monohidratada en bromuro de potasio.
Colocar la tableta en el espectrofotómetro y determinar el espectro de absorbancia infrarrojo, comprendido entre las longitudes de onda de 2 a 15 micrones.
- 5.1.4 Interpretación de resultados.
El espectro de absorción de la muestra debe compararse cualitativamente con el espectro de absorción del patrón de referencia preparado en condiciones idénticas.
- 5.2 Determinación de Potencia.
- 5.2.1 Método Microbiológico.
- 5.2.1.1 Aparatos y equipo. (S)
- Horno para esterilizar
Autoclave
Incubadora
Fotocolorímetro con filtro para 580 milimicras
Botella de Roux
Cajas Petri de 20 x 100 mm
Tapas de porcelana y vidriadas por fuera, para las cajas Petri
Cilindros de acero inoxidable con un diámetro exterior de 8.0 mm — (+ 0.1 mm) y un diámetro interior de 6.0 mm (+ 0.1 mm) con una altura de 10.0 mm (+ 0.1 mm).

Escala graduada con décimas de milímetro
Equipo común de laboratorio.

5.2.1.2 Materiales y reactivos.

Patrón de referencia

Solución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento, pH 6.0 —
(Fosfato de potasio dibásico: 2.0 gr; Fosfato de potasio monobásico
8.0 gr; Agua destilada c.b.p. 1000 ml).

Cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P).

Medio antibiótico No. 1 (BBL 10936/7 o Difco 0263). Preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Medio antibiótico No. 2 (BBL 10942/3 o Difco 0270) Preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Solución salina esterilizada (Cloruro de sodio: 8.5 gr, agua destilada c.b.p. 1000 ml).

5.2.1.3 Preparación de la solución patrón.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente — pesada de patrón de referencia de dicloxacilina sódica monohidratada, equivalente a 100.0 mg de dicloxacilina, disolver y aforar con solución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento, pH 6.0 (Concentración estimada: 1.0 mg de dicloxacilina por ml). Transferir 10.0 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 100 ml y diluir — con solución reguladora de fosfato de potasio 1.0%; pH 6.0 hasta el aforo (Concentración estimada: 100.0 mcg de dicloxacilina por ml).

5.2.1.4 Preparación del microorganismo de prueba.

Cultivar la cepa de *Staphylococcus aureus* en tubos de ensayo con 10.0 ml de medio antibiótico No.1 inclinado, incubar a 32 - 35°C durante - 24 horas. Lavar el desarrollo de un tubo con 3.0 ml de solución salina esterilizada. Pasar esta suspensión de microorganismos a una botella de Roux conteniendo 250.0 ml de medio antibiótico No. 1. Extender la - suspensión en toda la superficie de medio con ayuda de perlas de vidrio esterilizadas, incubar la botella de Roux 24 horas a 32 - 35°C. Lavar el crecimiento resultante con 50.0 ml de solución salina esterilizada. Diluir esta suspensión de tal manera que una dilución 1:20 de ella, de una transmisión de 25 por ciento en un fotocolorímetro - con un filtro de 580 milimicras y un tubo de 13.0 mm de diámetro. - Hacer placas de prueba para determinar la cantidad de suspensión que

debe añadirse a 100.0 ml de medio (Generalmente 0.1 ml) para dar -- zonas de inhibición claras y definidas de tamaño apropiado.

5.2.1.5 Preparación de las placas.

Preparar las placas el mismo día que se van a usar. Colocar 21.0 ml -- de medio antibiótico No. 2 en cada caja Petri, extender el medio uniformemente y dejar solidificar. Fundir la cantidad necesaria de medio antibiótico No. 1 y enfriar a 48 - 50°C, añadir la cantidad necesaria de la suspensión de *Staphylococcus aureus* según las experiencias de -- la preparación del microorganismo de prueba y mezclar para obtener -- una suspensión homogénea. Añadir a cada caja Petri 4.0 ml de medio -- inoculado y distribuirlo uniformemente, cubrirlas con las tapas de -- porcelana y dejar solidificar. Cuando el medio ha solidificado colocar seis cilindros en la superficie del agar inoculado a intervalos de 60° grados aproximadamente sobre un radio de 2.8 cm.

5.2.1.6 Preparación de la curva patrón.

Preparar las siguientes diluciones a partir de la solución patrón de 100.0 mcg/ml usando solución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento, pH 6.0:

3.20 ml a 100 ml (3.20 mcg/ml)

4.00 ml a 100 ml (4.00 mcg/ml)

5.00 ml a 100 ml (5.00 mcg/ml)

6.25 ml a 100 ml (6.25 mcg/ml)

7.81 ml a 100 ml (7.81 mcg/ml)

Usar 4 series de 3 cajas Petri cada una.

Serie 1: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 3.2 mcg/ml.

Serie 2: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 4.0 mcg/ml.

Serie 3: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 6.25 mcg/ml.

Serie 4: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 7.81 mcg/ml.

Llenar los 3 cilindros restantes de cada caja, con dilución patrón de 5.0 mcg/ml.

Incubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las 36 lecturas --

de la dilución patrón de 5.0 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas - de cada dilución patrón. Corregir las lecturas de cada una de las series 1, 2, 3, y 4, aumentando o disminuyendo la misma diferencia que existe entre el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 5.0 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de esa misma dilución en cada serie. Ejemplo: Si el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 5.0 mcg/ml es de 16.5 mm y el promedio de esta dilución en la serie 4 es 16.3 mm, la corrección será +0.2 mm. Si el promedio de lecturas de la dilución de concentración más alta de esas mismas 3 cajas es de 16.9 mm, el diámetro corregido es entonces 17.1 mm. Graficar los diámetros corregidos, incluyendo el promedio de los 36 diámetros de la concentración de referencia en papel semilogaritmico de dos ciclos, usando la concentración del antibiótico en mcg/ml como la ordenada y el diámetro de las zonas de inhibición como la absisa. La curva patrón puede también calcularse mediante los valores máximo y mínimo, que se obtienen mediante las ecuaciones siguientes:

$$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5} \qquad H = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$$

Donde:

L = Diámetro de la zona calculado para la concentración más baja de la curva.

H = Diámetro de la zona calculado para la concentración más alta de la curva.

c = Promedio del diámetro de la zona de 36 lecturas del punto de referencia de la solución patrón de 5.00 mcg/ml

a = Valor promedio corregido para la dilución de 3.20 mcg/ml

b = Valor promedio corregido para la dilución de 4.00 mcg/ml

d = Valor promedio corregido para la dilución de 6.25 mcg/ml

e = Valor promedio corregido para la dilución de 7.81 mcg/ml

5.2.1.7 Procedimiento.

Preparar la solución problema en la misma forma que la solución patrón (5.2.1.3), haciendo al final otra dilución de 5.0 ml a 100 ml con la misma solución reguladora para tener una concentración estimada de 5.0 mcg de dicloxacilina base por ml. Usar 3 placas preparadas como se indica en (5.2.1.5). Llenar 3 cilindros alternados de cada placa con di-

lución patrón de 5.0 mcg/ml y los tres cilindros restantes con dilución problema. Incubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las lecturas de la solución patrón y el de las lecturas de la solución problema. Si el promedio de las lecturas del problema tiene un valor mayor que el promedio de lecturas de la solución patrón, agregar la diferencia al diámetro de la dilución de 5.0 mcg/ml en la curva patrón. Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor menor que el promedio de lecturas de la solución patrón, restar esta diferencia al diámetro de la dilución de 5.0 mcg/ml en la curva patrón. Leer en la curva la concentración correspondiente a estos valores corregidos de diámetro de las zonas. Multiplicar la concentración por el factor de dilución apropiado para obtener el contenido de antibiótico en la muestra.

5.2.2 Método químico (Ensayo yodométrico).

5.2.2.1 Aparatos y equipo.

Agitador magnético

Matraces de yodo

Equipo común de laboratorio

5.2.2.2 Materiales y Reactivos.

Patrón de referencia

Solución de tiosulfato de sodio 0.01 N (Tiosulfato de sodio pentahidratado: 2.482 gr; carbonato de sodio: 0.125 gr; agua destilada c.b.p 1000 ml).

Hidróxido de sodio 1.0 N

Acido clorhídrico 1.2 N

Solución de yodo 0.01 N (Preparada de solución de yodo 0.1 N U.S.P.)

Solución de pasta de yoduro de almidón, S.R. (U.S.P. XVIII - 1031).

5.2.2.3 Preparación de la solución patrón y solución problema.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente pesada de patrón de referencia de dicloxacilina sódica monohidratada, equivalente a 125 mg de dicloxacilina y aforar con agua destilada para obtener una concentración final de 1.25 mg/ml de dicloxacilina.

Preparar la solución problema de la misma forma que la solución patrón, para obtener una concentración final estimada: 1.25 mg/ml.

400282



61060

5.2.2.4 Procedimiento.

Inactivación de las soluciones Patrón y Problema.

Transferir 2.0 ml de la solución problema y de la solución patrón a un matraz de yodo respectivamente. Adicionar 2.0 ml de hidróxido de sodio 1.0 N y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después de este tiempo adicionar 2.0 ml de ácido clorhídrico 1.2 N, añadir 10.0 ml de solución de yodo 0.01 N, tapar los matraces y dejar reposar durante 15 minutos y proceder a titular el exceso de yodo como se indica a continuación.

Determinación del blanco: Transferir 2.0 ml tanto de solución patrón como de solución problema a un matraz de yodo respectivamente. Adicionar 10.0 ml de solución de yodo 0.01 N a cada matraz y proceder a titular.

Titulación: Titular el exceso de yodo usando tiosulfato de sodio 0.01 N, tanto de las soluciones inactivadas como de los blancos de referencia. Hacia el final de la titulación adicionar una gota de una solución de pasta de yoduro de almidón. Continuar la titulación por adición de porciones de 0.01 a 0.02 ml más de tiosulfato de sodio 0.01N — agitando después de cada adición. El punto final de la titulación se alcanza cuando desaparece el color azul intenso debido al complejo — yodo-almidón.

5.2.2.5 Cálculos.

Determinar el factor F (microgramos de actividad equivalentes a cada — mililitro de tiosulfato de sodio 0.01 N consumidos):

$$F = \frac{W_s \times P}{V_s}$$

Donde:

W_s = Peso real en miligramos de patrón de referencia de dicloxacilina — sódica monohidratada en los 2.0 ml titulados.

P = Potencia del patrón de referencia en microgramos por miligramo — de dicloxacilina.

V_s = Mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación de la solución patrón de referencia. inactivada menos los mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación del blanco de la solución patrón de referencia. (La diferencia — es el equivalente del número de mililitros de yodo 0.01 N absor-

bidos por el patrón de referencia inactivados).

Potencia del antibiótico:

Calcular la potencia del problema en microgramos por miligramo de dicloxacilina, por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{mcg por mg} = \frac{V_p \times F}{W_p}$$

Donde:

V_p = Mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación de la solución problema inactivada menos los mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación del blanco de la solución problema. (La diferencia es el equivalente del número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por la solución problema inactivada).

W_p = Peso real en miligramos del problema en los 2.0 ml titulados.

5.3 Determinación del contenido de cloro.

5.3.1 Contenido de cloro orgánico.

5.3.1.1 Aparatos y Equipo.

Matraz de combustión en atmósfera de oxígeno (Matraz de Schoniger).

Potenciómetro con un electrodo de plata y otro electrodo de plata/cloruro de plata.

Agitador magnético

Equipo común de laboratorio.

5.3.1.2 Materiales y Reactivos.

Ácido-orto-clorobenzoico de pureza conocida.

Solución de nitrato de plata 0.01 N (Para estandarizar esta solución, pesar una muestra de 20.0 a 25.0 miligramos de ácido orto-clorobenzoico y continuar como en el procedimiento (5.3.1.3), para encontrar la normalidad real de la solución por la siguiente fórmula:

$$\text{Normalidad (N)} = \frac{\% \text{ de pureza del } \text{ác. orto-clorobenzoico} \times \text{miligramos de ácido orto-clorobenzoico}}{15.657 \times \text{mililitros de nitrato de plata consumidos.}}$$

Solución de hidróxido de sodio 0.1 N

Solución de ácido nítrico (Mezclar un volumen 1 a 1; un volumen de -

ácido nítrico concentrado con un volúmen de agua destilada).

Papel filtro libre de haluros.

Oxígeno.

5.3.1.3 Procedimiento (Cloro total).

Se deben tomar las precauciones necesarias tales como: el manejo del material de vidrio en perfectas condiciones y bien limpio así como - la protección del analista y del aparato de combustión.

Pesar de 20.0 a 25.0 miligramos del problema y colocarlos en el centro de un papel filtro de 4.0 centímetros cuadrados de diámetro libre de haluros. (El papel debe ser especialmente cortado para dejar una tira del mismo papel filtro libre para poder iniciar la combustión en el contenedor del matraz de combustión). Se dobla el papel para que - la muestra quede perfectamente encerrada. Al frasco de combustión en atmosfera de oxígeno (Matraz Schoniger), adicionar 10.0 ml de hidróxido de sodio 0.1 N; y desplazar el aire del matraz con una corriente de oxígeno. Colocar la muestra problema dentro del contenedor para -- muestra de platino y quemar la tira de papel en forma conveniente. Si la tira de papel es quemada fuera del matraz, inmediatamente se mete dentro del matraz y se tapa con todo y el aditamento; invertir el matraz para que la solución de hidróxido de sodio selle perfectamente - alrededor del tapón y lo mantenga firme en su lugar. Si la ignición - se lleva a cabo en un sistema cerrado, la inversión del frasco se omi - te. Después que la combustión se complete, agitar el frasco, adicionar una pequeña cantidad de agua destilada sobre el cuello del frasco y - del tapón para asegurarse de que este bien sellado y no se escape el e oxígeno, y dejar con agitación intermitente no menos de 10 minutos. -- Transferir a un recipiente conveniente para su titulación, calentar a - baño de agua por 20 a 30 minutos, enfriar a temperatura ambiente, adi - cionar 5.0 ml de solución de ácido nítrico, y titular potenciométrica - mente con solución de nitrato de plata 0.01 N usando un electrodo de - plata y otro de plata/cloruro de plata.

5.3.1.4 Cálculos.

Por ciento de cloro orgánico = (por ciento de cloro total) - (por - ciento de cloro libre).

5.3.2 Contenido de cloro libre.

5.3.2.1 Aparatos y equipo

Potenciómetro con un electrodo de plata y otro de plata/cloruro de plata.

Agitador magnético

Equipo común de laboratorio.

5.3.2.2 Materiales y reactivos.

Solución de hidróxido de sodio 0.1 N

Solución de ácido nítrico (Mezclar un volumen 1 a 1; un volumen de ácido nítrico concentrado con un volumen de agua destilada).

Solución de nitrato de plata 0.01 N (Estandarizar esta solución como - en (5.3.1.2) para el contenido de cloro orgánico).

5.3.2.3 Procedimiento.

Pesar de 100.0 a 150.0 mg de problema directamente a un matraz para su titulación, disolver en 10.0 ml de hidróxido de sodio 0.01 N, y adicionar 20.0 ml de agua destilada. Calentar esta solución en un baño de vapor por 20 a 30 minutos, enfriar a temperatura ambiente, adicionar 5.0 ml de solución de ácido nítrico 1 a 1 y titular potenciométricamente con nitrato de plata 0.01 N usando un electrodo de plata y uno de plata/cloruro de plata.

5.3.2.4 Cálculos.

Para calcular el por ciento de contenido de cloro libre, aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{Por ciento de Cl}^- = \frac{\text{Volúmen de titulación} \times N \times \text{meq del Cl}^- \times 100}{\text{Peso de la muestra.}}$$

5.4 Determinación de pH.

Determinar el pH de una solución acuosa de dicloxacilina sódica monohidratada al 1.0 por ciento, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-D-14 en vigor.

5.5 Determinación del contenido de agua.

Hacer la determinación del contenido de agua en una muestra de aproximadamente 200.0 mg, por el método de Karl Fisher, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-K-119-1965.

5.6 Prueba de cristalinidad.

5.6.1 Aparatos y equipo.

Microscopio de luz polarizada.

Equipo común de laboratorio.

- 5.6.2 Materiales y reactivos.
Aceite mineral.
- 5.6.3 Procedimiento.
Mezclar en un portaobjetos una pequeña cantidad del problema con una o dos gotas de aceite mineral. Cubrir el portaobjetos y observar al microscopio **polarizado**.
- 5.6.4 Interpretación de resultados.
Los cristales de dicloxacilina sódica monohidratada, muestran partículas en las cuales se observa el fenómeno de birrefringencia y posiciones de extinción por movimiento circular del porta-objetos.
- 5.7 Prueba de Toxicidad Anormal.
- 5.7.1 Aparatos y equipo.
Autoclave
Equipo común de laboratorio.
- 5.7.2 Materiales y reactivos.
Ratones blancos de 18.0 a 25.0 g no usados previamente en otra prueba similar.
Solución salina estéril (Disolver 9.0 gr de cloruro de sodio en agua destilada para hacer 1000 ml. Esterilizar en autoclave a 121°C por 20 minutos).
- 5.7.3 Procedimiento.
Inyectar intravenosamente a 5 ratones 0.5 ml de una solución conteniendo 20.0 mg de actividad de dicloxacilina por ml en solución salina esterilizada. La inyección debe hacerse en un período de tiempo entre 5 y 10 segundos (no menos de 5 segundos para evitar un shock en los ratones que se puede confundir como prueba negativa de seguridad); - observar los ratones durante 48 horas.
- 5.7.4 Interpretación de los resultados.
Si ningún animal muere en el período de observación de 48 horas la muestra pasa la prueba. Si uno o más animales muere dentro de las 48 horas, repetir la prueba una o más veces, usando para cada prueba - cinco ó más ratones con un peso de 20.0 gr (\pm 0.5 gr) cada uno; si - el total de ratones muertos dentro de las 48 horas no es mayor de 10 por ciento del número total de animales probados, incluyendo la prueba original, la muestra pasa la prueba.

5.8 Prueba de esterilidad.

5.8.1 Aparatos y equipo.

Equipo de filtros membrana para prueba de esterilidad de 3 ó 6 unidades
Membranas filtrantes de 0.45 micras

Campana de flujo laminar.

Autoclave

Potenciómetro

Tubos para cultivo con tapa

Cortadores y pinzas para membrana

Equipo común de laboratorio.

5.8.2 Materiales y reactivos.

Peptona (BBL 11919 ; Difco 0118-01-8)

Solución de peptona (Disolver 1.0 gr de peptona en suficiente agua --
destilada para aforar a un litro, ajustar el pH a 7.1 ± 0.1 si es ne-
cesario con ácido clorhídrico 2.0 N o hidróxido de sodio 2.0 N.).

Medio fluido de tioglicolato (BBL 11260; Difco 0256-01-0)

Medio digerido de soya y caseína (BBL 11768; Difco 0370-01-1).

Penicilinasas 20,000 U.L./ml (Preparada por dilución de Penase BBL -
11899; o Difco 0346).

Agar micológico (BBL 11445; Difco 0405-01-0).

Agar soya tripticasa (BBL 11043; Difco 0369).

5.8.3 Procedimiento.

Armar un equipo de filtración de 3 o 6 unidades con sus filtros mem-
branas y filtros hidrofóbicos según instrucciones del fabricante y pre-
pararlos para su esterilización, esterilizar en autoclave todo el equi-
po a 121°C ; De 20 a no más de 45 minutos. EL TIEMPO Y LA TEMPERATURA -
SON CRITICOS. Los filtros membrana pueden ser esterilizados aparte, pe-
ro da mejor resultado y menos riesgo de contaminación si se esterilizan
ya en la unidad.

Los cortadores y pinzas deben estar esterilizados en calor seco a 250°C
por un mínimo de una hora.

Preparar y limpiar la campana de flujo laminar y en condiciones aseépti-
cas pasar todo el material que se va a utilizar para la prueba, conec-
tarla y dejarla un tiempo de 10 a 15 minutos.

Tomar una muestra asépticamente de 6.0 gr que debe contener de todos y
cada uno de los recipientes que forman un lote, transferir a un matrás

Erlenmeyer de 500 ml que contenga 200.0 ml de peptona esterilizada y a temperatura ambiente, agitar hasta disolución total.

Empezar a filtrar asépticamente usando un filtro como testigo. Si la filtración se dificulta o es muy tardada se deberá repetir esa muestra.

Lavar el filtro con 200.0 ml de peptona que deberá contener 1.0 ml de penicilinas, finalmente hacer pasar 400.0 ml más de peptona. A todos y a cada uno de los tubos que contienen tioglicolato y soya - tripticasa se les agrega 1.0 ml de penicilinas en condiciones asépticas para inactivar cualquier residuo de penicilina que pudiera haber quedado.

Tomar la membrana con unas pinzas y colocarlas en el cortador, poniendo la parte central dentro de un tubo de ensayo que contenga medio -- fluido de tioglicolato. Colocar la parte exterior dentro de un tubo -- de ensayo conteniendo medio digerido de soya y caseína. Repetir esto con el testigo.

Exponer una caja petri con agar micológico y otra con agar soya tripticasa durante la prueba, incubar durante cuatro días y observar su crecimiento para seguridad de que el área en que se efectuó la prueba era estéril.

Incubar los tubos con tioglicolato por siete días, a 30 - 32°C (medio para bacterias) y los tubos con soya caseína a 22 - 25°C (medio para hongos).

5.8.4 Interpretación de resultados.

Se dice que el lote o muestra pasa la prueba si después de siete días de incubación, no muestra crecimiento ningún tubo.

Si se observa crecimiento, deberá repetirse la prueba con el doble de muestra y si el crecimiento es en un solo medio, colocar la membrana completa en ese medio.

Si en los dos ensayos hay crecimiento, la muestra no pasa la prueba.

5.9 Prueba de pirógenos.

5.9.1 Aparatos y equipo.

Termómetro clínico

Autoclave

Jeringas y agujas libres de pirógenos (Para dejarlas libres de pirógenos, calentarlas a 250°C por no menos de 30 minutos o por cualquier otro método apropiado).

Equipo común de laboratorio.

5.9.2 Materiales y reactivos.

Conejos sanos y tranquilos con un peso no menor de 1800.0 gramos, -- cada uno de los cuales debe ser mantenido en su peso con una dieta -- libre de antibióticos durante un mínimo de una semana e individual-- mente en una área de temperatura uniforme ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) y libre de pertur-- baciones que facilmente los exciten. No usar los animales frecuente-- mente o antes de dos semanas subsiguientes a una prueba calificada -- como pirogénica.

Agua destilada estéril libre de pirógenos (Recientemente destilada y esterilizada en autoclave a 121°C por no menos de 20 minutos y que -- pase la prueba de pirógenos).

Cloruro de sodio libre de pirógenos (Calentar el cloruro de sodio -- no menos de dos horas a 200°C para quedar libre de pirógenos).

Solución salina libre de pirógenos (Preparada de una solución isotóni-- ca de cloruro de sodio: 9.0 gr disueltos en 1000 ml de agua destilada -- estéril y libre de pirógenos. Esterilizar en autoclave a 121°C por -- no menos de 20 minutos, y hacer la prueba de pirógenos para su uso).

5.9.3 Procedimiento.

El día de la prueba suspender todo el alimento a los animales que van -- a ser usados hasta después de terminada, excepto la administración de -- agua.

Determinar la " temperatura control " de cada animal por inserción -- del termómetro en el recto del animal de prueba a una profundidad de -- no menos de 7.5 cm y manteniendolo suficiente tiempo para alcanzar -- una máxima temperatura, como fué determinado previamente, antes de -- tomar las lecturas.

En cualquier prueba usar solo aquellos animales cuyas " Temperaturas -- control" no se desvien por más de 1°C de cada una de las otras y no -- se use ningún animal con una temperatura que exceda de 39.8°C .

La temperatura control registrada para cada conejo constituye la tem-- -- peratura para calcular cualquier elevación subsecuente, despues de la -- inyección de la muestra problema.

Preparar una solución conteniendo 20.0 mg de actividad de dicloxaci-- -- lina por mililitro en solución salina estéril libre de pirógenos e -- inyectar una dosis de prueba de 1.0 ml de la muestra diluida por ca-- -- da kilogramo de peso de conejo, en la vena marginal de la oreja de --

cada uno de los tres conejos y dentro de los 30 minutos subsecuentes a la determinación de las lecturas de las temperaturas control; anotar - las temperaturas a la 1, 2 y 3 horas subsecuentes a la inyección.

5.9.4 Interpretación de resultados.

Si los conejos no muestran un incremento individual de temperatura de 0.6°C o más de su respectiva temperatura control y si la suma de los - tres incrementos de temperatura no excede de 1.4°C , la muestra pasa la prueba.

Si uno o dos conejos muestran una elevación de temperatura de 0.6°C o más; o si la suma de los incrementos de temperatura excede de 1.4°C , - repetir la prueba usando 5 conejos. Si no más de tres conejos de los - ocho, muestran incrementos individuales de temperatura de 0.6°C o más, o si la sumade esas elevaciones de temperatura no excede de 3.7°C , la muestra pasa la prueba.

6. Bibliografía.

Federal Register, Vol. 39, No. 105 - Mayo 30, 1974 - 440.19 y 440.19a

United States Pharmacopeia XIX.

1975. Pag 137.

The United States Dispensatory.

Arthur - Osol - Robertson Pratt.

J.B. Lippincott Company.

Philadelphia. Toronto. Pags. 414, 815-818 y 853.

Ama Drug Evaluations.

Segunda edición.

Publishing Sciences Group. Inc.

Acton, Massachusetts. Pag. 518

Remington's Pharmaceutical Sciences.

Décima cuarta edición, 1970

Mack Publishing Co.

Easton, Pennsylvania. Pags. 1238-1239.

C A P I T U L O IV

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

"AMOXICILINA TRIHIDRATADA"

DGN-39-4-V-3

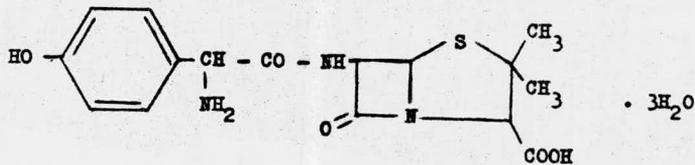
1. Generalidades.

Antibiótico perteneciente al grupo de las penicilinas semi-sintéticas.

1.1 Definiciones.

Para los efectos de esta norma se entiende por amoxicilina trihidratada el producto constituido principalmente por el compuesto químico -- $C_{16} H_{19} N_3 O_5 S \cdot 3H_2O$ con peso molecular de 419.40, con nombre químico de trihidrato del ácido 6-[-(-)-alfa-amino-a-p-hidroxifenilacetamido]-penicilánico; o trihidrato de D(-) alfa-amino-p-hidroxibencil penicilina; con aspecto de polvo blanco o amarillento y libre de materias extrañas visibles.

Fórmula desarrollada:



1.2 Alcance.

La presente norma se aplica a la amoxicilina trihidratada.

2. Clasificación.

El producto objeto de esta norma se clasifica en un solo tipo y grado de calidad, no estéril.

3. Especificaciones.

3.1 Del producto.

La amoxicilina trihidratada objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla I.

T A B L A I

Características	Amoxicilina trihidratada Especificaciones
Identificación I.R.	Pasa la prueba
Potencia (En base anhidra)	No menos de 900.0 mcg y no más de 1050.0 mcg de amoxicilina por miligramo.
Contenido de amoxicilina (En base anhidra)	No menos del 90 por ciento.
pH (En solución acuosa conteniendo 2.0 mg/ml)	3.5 a 6.0
Agua	11.5 a 14.5 por ciento.
Cristalinidad	Presenta birrefringencia a la luz polarizada.
Toxicidad anormal	Pasa la prueba.

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 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 l

yenda "Hecho en México", la leyenda "Conservese el envase bien cerrado y en lugar fresco y seco", potencia o equivalente en actividad (En amoxicilina base) 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 material cuyas características sean tales que no reaccionen con el producto, cerradas por separado y a su vez estas en cuñetes de capacidad y material adecuados; para que resistan su transporte y almacenamiento.

4. Muestreo.

El muestreo se efectua 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.

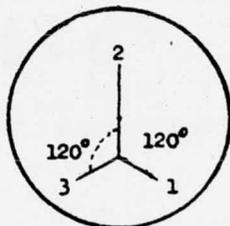
Guantes de hule con superficies exteriores lisas

Muestreador de acero inoxidable pulido, de 1/2 pulgada de diámetro con ventanas por lo menos de una tercera parte de la circunferencia; completo de tubo interior de cierre.

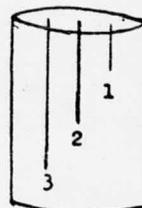
Bolsas de polietileno u otro material adecuado.

4.1.2 Manera de operar.

Por medio del muestreador sacar producto de cada cuñete en tres puntos diferentes dispuestos a $\pm 120^\circ$ uno del otro y a tres diferentes alturas según el siguiente esquema:



PLANTA



SECCION

De cada cuñete tomar aproximadamente 30.0 gr de producto y ponerlos en bolsas de polietileno u otro material adecuado marcadas con el número del cuñete y el número del lote. Cerrar los cuñetes con un oportuno -- cierre de garantía.

De cada bolsa de polietileno pesar partes proporcionales al peso neto declarado en la etiqueta del cuñete correspondiente y transferirlas a otra bolsa de polietileno. Mezclar hasta completa homogeneidad.

Esta muestra oficial se dividirá en dos partes: Una destinada al archi vo (Cantidad aproximada 100.0 gr) y la otra destinada al análisis. En el caso de que el lote se ponga en prueba de estabilidad se repartirá una tercera porción del producto en frascos ampula de 20 ml (20 fras-- cos conteniendo cada uno 1.0 gr de producto) debidamente rotulados y - cerrados.

4.2 Criterio de aceptación.

El criterio de aceptación es 100 por ciento.

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 referen- cia será el patrón oficial.

5.1 Procedimiento para la identificación de amoxicilina trihidratada.

5.1.1 Aparatos y equipo.

Espectrofotómetro infrarrojo

Equipo común de laboratorio.

5.1.2 Materiales y reactivos.

Bromuro de potasio grado espectro

Patrón de referencia.

5.1.3 Procedimiento.

Preparar una tableta con una mezcla al 0.5 por ciento de amoxicilina - trihidratada en bromuro de potasio.

Colocar la tableta en el espectrofotómetro y determinar el espectro de absorción infrarrojo, comprendido entre las longitudes de onda de 2 a 15 micrones.

5.1.4 Interpretación de resultados.

El espectro de absorción de la muestra debe compararse cualitativamen-

te con el espectro de absorción del patrón de referencia preparado en condiciones idénticas.

5.2 Determinación de potencia.

5.2.1 Método microbiológico.

5.2.1.1 Aparatos y equipo.

Horno para esterilizar

Autoclave

Incubadora

Fotocolorímetro con filtro para 580 milimicras

Botella de Roux

Cajas Petri de 20 x 100 mm

Tapas de porcelana y vidriadas por fuera, para las cajas Petri

Cilindros de acero inoxidable con un diámetro exterior de 8.0 mm (\pm 0.1 mm), un diámetro interior de 6.0 mm (\pm 0.1 mm), y una altura de - 10.0 mm (\pm 0.1 mm)

Escala graduada en décimas de milímetro o similar.

Equipo común de laboratorio.

5.2.1.2 Materiales y reactivos.

Patrón de referencia

Solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0 (Fosfato de potasio monobásico: 0.523 gr; fosfato de potasio dibásico: 16.73 gr; agua destilada c.b.p. 1000 ml)

Cepa de *Sarcina lutea* (ATCC 9341)

Medio antibiótico No. 1 (BBL 10936/7 ó Difco 0263) preparado de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Medio antibiótico No. 11 (BBL 10976/7 ó Difco 0593) preparado de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Solución salina esterilizada (Cloruro de sodio: 8.50 gr; agua destilada c.b.p. 1000 ml. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos.

Agua destilada estéril (Esterilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos.).

5.2.1.2 Preparación de la solución patrón.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente pesada de patrón de referencia de amoxicilina trihidratada, equivalente a 100 mg de amoxicilina, disolver y aforar con agua destilada estéril --

para dar una solución de trabajo conteniendo 1.0 mg de amoxicilina por mililitro. Transferir 1.0 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 1000 ml y diluir con solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0 hasta el aforo (Concentración estimada: 1.0 mcg de amoxicilina por ml).

5.2.1.4 Preparación del microorganismo de prueba.

Cultivar la cepa de *Sarcina lutea* en tubos conteniendo 10 ml de medio antibiótico No. 1 inclinado, incubar a 32 - 35°C durante 24 horas. Lavar el desarrollo de un tubo con 3.0 ml de solución salina esterilizada. Pasar esta suspensión de microorganismos a una botella de Roux con teniendo 250 ml de medio antibiótico No. 1 extender la suspensión en toda la superficie del medio con ayuda de perlas de vidrio esterilizadas, incubar la botella de Roux 24 horas a 32 - 35°C. Lavar el crecimiento resultante con 50 ml de solución salina esterilizada. Diluir esta suspensión de tal manera que una dilución 1:40 de ella, de una transmisión de 25 por ciento en un fotocolorímetro con un filtro a 580 m μ limicras y un tubo de 13 mm de diámetro. Hacer placas de prueba para determinar la cantidad de suspensión que debe añadirse a 100 ml de medio (Generalmente 0.5 ml). Para dar zonas de inhibición claras y definidas de tamaño apropiado.

5.2.1.5 Preparación de las placas.

Preparar las placas el mismo día que se van a usar. Colocar 21.0 ml de medio antibiótico No. 11 en cada caja Petri, extender el medio uniformemente y dejar solidificar. Fundir la cantidad necesaria de medio antibiótico No. 11 y enfriar a 48 - 50°C, añadir la cantidad necesaria de la suspensión de *Sarcina lutea* según las experiencias de la preparación del microorganismo de prueba y mezclar para obtener una suspensión homogénea. Añadir a cada caja Petri 4.0 ml de medio inoculado y distribuirlo uniformemente, cubrir las cajas con las tapas de porcelana y dejar enfriar para solidificar. Cuando el medio ha solidificado, colocar 6 cilindros en la superficie del agar inoculado a intervalos de 60° aproximadamente sobre un radio de 2.8 cm.

5.2.1.6 Preparación de la curva patrón.

Preparar las siguientes diluciones a partir de la solución patrón de referencia de 1.0 mcg/ml usando solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0

- 6.40 ml a 100 ml (0.064 mcg/ml)
- 8.00 ml a 100 ml (0.080 mcg/ml)
- 10.0 ml a 100 ml (0.100 mcg/ml)
- 12.5 ml a 100 ml (0.125 mcg/ml)
- 15.6 ml a 100 ml (0.156 mcg/ml).

Usar 4 series de 3 cajas Petri cada una.

Serie 1: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 0.064 mcg/ml.

Serie 2: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 0.080 mcg/ml.

Serie 3: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 0.125 mcg/ml.

Serie 4: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 0.156 mcg/ml.

Llenar los 3 cilindros restantes de cada caja, de cada serie, con dilución patrón de 0.100 mcg/ml.

Incubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 0.100 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de cada dilución patrón. Corregir las lecturas de cada una de las series 1, 2, 3, y 4, aumentando o disminuyendo la misma diferencia que exista entre el promedio de las 36 lecturas de la dilución de 0.100 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de esa misma dilución en cada serie. Ejemplo: Si el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 0.100 mcg/ml es 16.5 mm y el promedio de esta dilución en la serie 4 es 16.3 mm, la corrección será más 0.2 mm. Si el promedio de lecturas de la dilución de concentración más alta de esas misma 3 cajas es de 16.9 mm, el diámetro corregido es entonces 17.1 mm. Graficar los diámetros corregidos, incluyendo el promedio de los 36 diámetros de la concentración de referencia en papel semilogarítmico de dos ciclos, usando la concentración del antibiótico en mcg/ml como la ordenada y el diámetro de las zonas de inhibición como la abscisa.

La curva patrón puede también obtenerse calculando los valores máximo y mínimo por medio de las siguientes ecuaciones:

$$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5} \quad H = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$$

Donde:

- L = Diámetro de la zona calculado para la concentración más baja de la curva.
- H = Diámetro de la zona calculado para la concentración más alta de la curva.
- c = Promedio del diámetro de la zona de 36 lecturas del punto de referencia de la solución patrón de 0.100 mcg/ml.
- a = Valor promedio corregido para la dilución de 0.064 mcg/ml.
- b = Valor promedio corregido para la dilución de 0.080 mcg/ml.
- d = Valor promedio corregido para la dilución de 0.125 mcg/ml.
- e = Valor promedio corregido para la dilución de 0.156 mcg/ml.

5.2.1.7 Procedimiento.

Preparar la solución problema de la misma forma que la solución patrón (5.2.1.3), haciendo al final otra dilución de 10.0 ml a 100 ml con la misma solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0 para tener una concentración final estimada de 0.10 mcg/ml de amoxicilina base.

Usar 3 placas preparadas como se indica en (5.2.1.5). Llenar 3 cilindros alternados de cada placa con dilución patrón de 0.100 mcg/ml y los otros 3 cilindros con dilución problema. Incubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las lecturas de la solución patrón y el de las lecturas de la solución problema. Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor mayor que el promedio de lecturas de la solución patrón, agregar la diferencia al diámetro de la dilución de 0.10 mcg/ml en la curva patrón. Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor menor que el promedio de lecturas de la solución patrón, restar esta diferencia al diámetro de la dilución de 0.10 mcg/ml en la curva patrón. Leer en la curva la concentración correspondiente a estos valores corregidos de diámetro de las zonas de inhibición. Multiplicar la concentración por el factor de dilución apropiado para obtener el contenido de antibiótico en la muestra.

5.2.2 Método químico (Ensayo yodométrico).

5.2.2.1 Aparatos y equipo.

Agitador magnético

Matraces de yodo Erlenmeyer de 250 ml

Equipo común de laboratorio.

5.2.2.2 Materiales y reactivos.

Patrón de referencia

Solución de tiosulfato de sodio 0.01 N (Tiosulfato de sodio pentahidratado: 2.482 gr; 0.125 gr de carbonato de sodio; agua destilada c.b.p. 1000 ml)

Hidróxido de sodio 1.0 N

Acido clorhídrico 1.2 N

Solución de yodo 0.01 N (Preparado de solución de yodo 0.1 N U.S.P.)

Solución de pasta de yoduro de almidón 3.R. (U.S.P.)

Solución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento pH 6.0 (Fosfato de potasio monobásico: 8.00 gr; fosfato de potasio dibásico: 2.00 gr; agua destilada c.b.p. 1000 ml, ajustar a pH 6.0 (+ 0.05) con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N).

5.2.2.3 Preparación de la solución patrón y solución problema.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente pesada de amoxicilina trihidratada, equivalente a 100.0 mg de amoxicilina y aforar con solución reguladora de fosfato de potasio 1.0 por ciento pH 6.0 para obtener una concentración final de 1.0 mg de amoxicilina por mililitro.

Preparar la solución patrón de la misma forma que la solución problema usando patrón de referencia de amoxicilina trihidratada.

5.2.2.4 Procedimiento.

Inactivación de las soluciones patrón y problema: Adicionar 5.0 ml de solución problema y solución patrón de referencia a un matraz Erlenmeyer respectivamente. Adicionar 5.0 ml de la solución de hidróxido de sodio 1.0 N y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después de este tiempo adicionar 5.0 ml de ácido clorhídrico 1.2N y 20 ml de solución de yodo 0.01 N, tapar los matraces y dejar en reposo durante 15 minutos y enseguida proceder a titular el exceso de yodo como se indica a continuación.

A otros dos matraces adicionar respectivamente 5.0 ml de solución problema y solución patrón de referencia y 20.0 ml de solución de yodo 0.01 N y titular inmediatamente como se indica a continuación para determinar el blanco de cada solución.

Titulación: Titular el exceso de yodo tanto de las soluciones inactivadas como de las soluciones blanco, usando tiosulfato de sodio 0.01 N. Hacia el final de cada titulación, adicionar una gota de solución de -

almidón. Continuar titulando por adición de porciones de 0.01 a 0.02 ml de tiosulfato de sodio 0.01 N, agitar después de cada adición. El punto final de la titulación se alcanza cuando desaparece el color azul debido al complejo yodo-almidón.

5.2.2.5 Cálculos.

Determinar el factor F, (Microgramos de actividad equivalentes a cada mililitro de tiosulfato de sodio 0.01 N consumido):

$$F = \frac{W_s \times P}{V_s}$$

Donde:

W_s = Peso real en miligramos de patrón de referencia de amoxicilina trihidratada en los 5.0 ml titulados.

P = Potencia del patrón de referencia en microgramos por miligramo de amoxicilina.

V_s = Mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación de la solución patrón de referencia inactivada menos los mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación del blanco. (La diferencia es el equivalente del número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por el patrón de referencia inactivado).

Potencia del antibiótico: Calcular la potencia del problema en microgramos por miligramo de amoxicilina, por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{mcg/mg} = \frac{V_p \times F}{W_p}$$

Donde:

V_p = Mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación de la solución problema inactivada menos los mililitros de tiosulfato de sodio 0.01 N usados en la determinación del blanco de la solución problema. (La diferencia es el equivalente del número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por la solución problema inactivada).

W_p = Peso real en miligramos del problema en los 5.0 ml titulados.

5.3 Determinación del contenido de amoxicilina.

5.3.1 Titulación ácido.

5.3.1.1 Aparatos y equipo.

Agitador magnético
Equipo común de laboratorio.

5.3.1.2 Materiales y reactivos.

Dimetil-sulfóxido

Metanol absoluto

Metóxido de sodio 0.01 N (Previamente estandarizado contra ácido benzoico disuelto en 50.0 ml de dimetilformamida).

Solución de azul de bromotimol al 0.5 por ciento en metanol absoluto.

5.3.1.3 Procedimiento.

Transferir aproximadamente 40 mg de muestra en un matraz Erlenmeyer de 100 ml, añadir 20.0 ml de dimetilsulfóxido, cubrir el matraz y agitar hasta que la muestra se disuelva. Añadir 30.0 ml de metanol absoluto y titular la muestra usando un sistema cerrado para evitar la humedad, con metóxido de sodio 0.01 N como titulante.

Titular un blanco de 20.0 ml de dimetilsulfóxido y 30.0 ml de metanol absoluto. El punto final de la titulación se alcanza cuando aparece un color azul, usando 4 gotas de azul de bromotimol al 0.5 por ciento en metanol absoluto como indicador.

5.3.1.4 Cálculos.

Calcular el contenido de amoxicilina en base anhidra, considerando que cada mililitro de metóxido de sodio 0.01 N es equivalente a 3.65 mg de amoxicilina.

5.3.2 Titulación amino (Base).

5.3.2.1 Aparatos y equipo.

Agitador magnético

Equipo común de laboratorio.

5.3.2.2 Materiales y reactivos.

Acido acético glacial

Acido perclórico 0.01 N en ácido acético glacial (Previamente estandarizado contra difenilguanidina)

Solución de cristal violeta al 0.5 por ciento en ácido acético glacial.

5.3.2.3 Procedimiento.

Transferir aproximadamente de 40.0 a 50.0 mg de muestra en un matraz Erlenmeyer de 100 ml, adicionar 50.0 ml de ácido acético glacial, tapar el matraz y agitar hasta disolver la muestra añadir 3 gotas de --

crystal violeta al 0.5 por ciento en ácido acético glacial como indicador. Titular usando un sistema cerrado para evitar la humedad, con ácido perclórico 0.01 N en ácido acético glacial hasta el primer vireo verde claro como punto final de la titulación. Titular un blanco conteniendo 50.0 ml de ácido acético glacial en la misma forma que la muestra problema.

5.3.2.4 Cálculos.

Calcular el contenido de amoxicilina en base anhidra, considerando que cada mililitro de ácido perclórico 0.01 N es equivalente a 3.65 mg de amoxicilina.

5.4 Determinación de pH.

Determinar el pH de una solución acuosa conteniendo 2.0 mg de amoxicilina trihidratada por mililitro, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-D-14 en vigor.

5.5 Determinación del contenido de agua.

Hacer la determinación del contenido de agua en una muestra de aproximadamente 200.0 mg, por el método de Karl Fisher, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-K-119-1965.

5.6 Prueba de cristalinidad.

5.6.1 Aparatos y equipo.

Microscopio con luz polarizada
Equipo común de laboratorio.

5.6.2 Materiales y reactivos.

Aceite mineral.

5.6.3 Procedimiento.

Mezclar en un porta-objetos una pequeña cantidad de muestra con una o dos gotas de aceite mineral. Cubrir el porta-objetos y observar al microscopio polarizado.

5.6.4 Interpretación de resultados.

Los cristales de amoxicilina trihidratada, muestran partículas en las cuales se observa el fenómeno de birrefringencia y posiciones de extinción por movimientos circular del porta-objetos.

5.7 Prueba de toxicidad anormal.

5.7.1 Aparatos y equipo.

Equipo común de laboratorio.

5.7.2 Materiales y reactivos.

Ratones blancos de 18.0 a 25.0 gr no usados previamente en otra prueba similar.

Solución de hidróxido de sodio 0.05 N.

5.7.3 Procedimiento.

Injectar intravenosamente en la vena caudal de cada uno de cinco ratones 0.5 ml de una solución conteniendo 20.0 mg de actividad en amoxicilina por mililitro, en hidróxido de sodio 0.05 N. La inyección debe hacerse en un período de tiempo menor de 5 segundos; observar los ratones durante 48 horas.

5.7.4 Interpretación de resultados.

Si ningún animal muere en el período de observación de 48 horas la muestra pasa la prueba. Si uno o más animales mueren dentro de las 48 horas de observación, repetir la prueba una o más veces, usando para cada prueba cinco o más ratones con un peso de 20.0 gr (+ 0.5 gr) cada uno; si el total de ratones muertos dentro de las cuarenta y ocho horas no es mayor del 10 por ciento del número total de animales probados, incluyendo la prueba original, la muestra pasa la prueba.

6. Bibliografía.

Code of Federal Regulations.

Food and Drugs 1975 - 440.3. Pags. 262 - 263

Beecham Pharmaceutical Inc.

The United States Dispensatory

Vigésima séptima edición

Arthur Osol - Robertson Pratt

J.B. Lippincott Co. Philadelphia, Toronto. Pags. 78 y 852.

British Medical Journal, Vol 3 - Julio 1 - 1972 Pags. 13-16.

C A P I T U L O V

ANTEPROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA

"ESTEARATO DE ERITROMICINA"

DGN-39-4-II-3

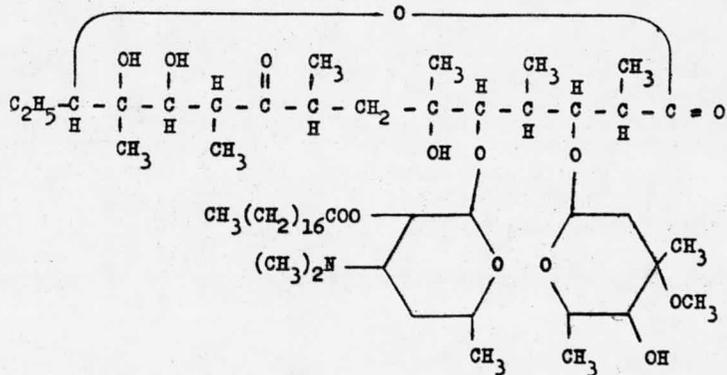
1. Generalidades.

Es la sal del ácido estearico de eritromicina (El estearato de una sustancia antimicrobiana producida por el crecimiento de ciertas cepas de *Streptomyces erythreus* Waksman, con ácido estearico y estearato de sodio.).

1.1 Definiciones.

Para los efectos de esta norma se entiende por estearato de eritromicina el producto constituido principalmente por el compuesto químico $C_{55}H_{101}N O_{14}$ con peso molecular de 1000.40 con nombre químico de ester estearico de eritromicina; con aspecto de polvo blanco cristalino o ligeramente amarillento, inodoro con sabor ligeramente amargo y libre de materias extrañas visibles.

Fórmula desarrollada:



1.2 Alcance.

Esta norma se aplica al estearato de eritromicina.

2. Clasificación.

El producto objeto de esta norma se clasifica en un solo tipo y grado de calidad, no estéril.

3. Especificaciones.

3.1 Del producto.

El estearato de eritromicina objeto de esta norma, debe cumplir con -- las especificaciones indicadas en la tabla I.

T A B L A I

Características	Estearato de eritromicina Especificaciones
Identificación I.R.	Pasa la prueba
Potencia (En base anhidra)	No menos de 550.0 microgramos por miligramo de eritromicina
Contenido de estearato de eritromicina (En base anhidra)	No menos de 77.0 por ciento
Contenido de ácido esteárico libre	5.0 a 18.5 por ciento
Contenido de estearato de sodio	Máximo 6.0 por ciento
Residuo a la ignición	Máximo 1.0 por ciento
pH (En suspensión acuosa 1.0 por ciento P/V)	6.0 a 11.0
Agua	Máximo 4.0 por ciento
Cristalinidad	Presenta birrefringencia a la luz polarizada.
Toxicidad anormal	Pasa la prueba

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 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 bien cerrado y en lugar fresco y seco", potencia o equivalente en actividad (En eritromicina base) y cualquier otro dato que se juzgue conveniente, tales como precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los empaques y envasos 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 esta norma se debe envasar en doble bolsa de polietileno, o cualquier material cuyas características sean tales que no reaccionen con el producto, cerradas por separado y a su vez estas 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:

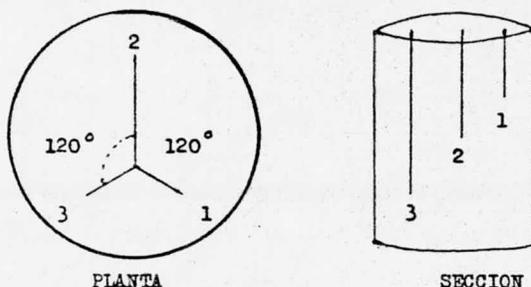
4.1 Método de muestreo para producto terminado a granel.

4.1.1 Equipo.

Guantes de hule con superficies exteriores lisas
Muestreador de acero inoxidable pulido, de 1/2 pulgada de diámetro con ventanas por lo menos de una tercera 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 en tres puntos diferentes dispuestos a $\pm 120^\circ$ uno del otro y a tres diferentes alturas según el esquema siguiente:



De cada cuñete tomar aproximadamente 30.0 gr de producto y ponerlos en bolsas de polietileno marcadas con el número del cuñete y el número — del lote. Cerrar los cuñetes con oportuno cierre de garantía.

De cada bolsa de polietileno pesar partes proporcionales al peso neto declarado en la etiqueta del cuñete correspondiente y transferirlas en otra bolsa de polietileno. Mezclar hasta completa homogeneidad.

Esta muestra oficial se dividirá en dos partes: una destinada al archivo (Cantidad aproximada 100.0 gr) y la otra destinada al análisis. En el caso de que el lote se ponga en prueba de estabilidad se repartirá una tercera porción del producto en frascos ampula de 20.0 ml (20 frascos conteniendo cada uno 1.0 gr de producto) debidamente rotulados y cerrados.

4.2 Criterio de aceptación.

El criterio de aceptación es 100 por ciento.

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 estearato de eritromicina.

5.1.1 Aparatos y equipo.

Espectrofotómetro infrarrojo

Equipo común de laboratorio.

5.1.2 Materiales y reactivos.

Nujol

Patrón de referencia.

5.1.3 Procedimiento.

Pesar 20.0 mg aproximadamente de muestra y adicionar dos gotas de nujol, mezclar y trirurar perfectamente hasta tener una consistencia uniforme. Usar dos placas de sal de roca como una celda de absorción, colocar una gota entre las dos placas, presionar las dos placas para evitar cualquier burbuja de aire.

Colocar las dos placas con la muestra en el espectrofotómetro y determinar el espectro de absorción infrarrojo, comprendido entre las longitudes de onda de 2 a 15 micrones.

5.1.4 Interpretación de resultados.

El espectro de absorción de la muestra debe compararse cualitativamente con el espectro de absorción del patrón de referencia preparado en condiciones idénticas.

5.2 Determinación de potencia.

5.2.1 Método microbiológico.

5.2.1.1 Aparatos y equipo.

Horno para esterilizar

Autoclave

Incubadora

Fotocolorímetro con filtro para 580 milimicras

Botella de Roux

Cajas Petri de 20 x 100 mm

Tapas de porcelana y vidriadas por fuera, para las cajas Petri

Horno con vacío

Cilindros de acero inoxidable con un diámetro exterior de 8.0 mm (+ 0.1 mm), un diámetro interior de 6.0 mm (+ 0.1 mm) y una altura de 10.0 mm (+ 0.1 mm)

Escala graduada con décimas de mm o similar

Equipo común de laboratorio.

5.2.1.2 Materiales y reactivos.

Patrón de referencia

Alcohol metílico

Solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0 (Fosfato de po-

tasio dibásico: 16.73 gr, fosfato de potasio monobásico: 0.523 gr; --
agua destilada c.b.p. 1000 ml).

Medio antibiótico No.1 (BBL 10936/7 6 Difco 0263) Preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Medio antibiótico No.11 (BBL 10976/7 6 Difco 0593) Preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Cepa de *Sarcina lutea* (ATCC 9341)

Solución salina esterilizada (Cloruro de sodio: 8.50 gr; agua destilada c.b.p. 1000 ml)

Agente desecante (Acido sulfúrico; sílica gel, pentóxido de fósforo, -
etc.).

5.2.1.3 Preparación de la solución patrón.

Secar una cantidad de patrón de referencia de estearato de eritromicina, en un horno con vacío con una atmósfera de humedad relativa de 10 por ciento. Colocar la muestra patrón en un frasco con tapón esmerilado en el horno sin obstruir el período de secado, a una temperatura de 60°C y una presión de 5.0 milímetros de mercurio durante 3 horas. Al final del período de secado llenar el horno de vacío con aire seco pasándolo a través de un agente desecante tal como el sulfúrico o la sílica gel. Tapar el frasco con la muestra patrón de referencia y pasarlo a un desecador que contenga un agente desecante tal como pentóxido de fósforo o sílica y dejar enfriar a temperatura ambiente.

Transferir a un matraz aforado de 100 ml, una cantidad exactamente pesada de patrón de referencia de estearato de eritromicina previamente secada, equivalente a 100.0 mg de eritromicina base, disolver y aforar con alcohol metílico (Concentración estimada: 1.0 mg de eritromicina - base por ml). Transferir 10.0 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 1000 ml y diluir con solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0 hasta el aforo (Concentración estimada: 10.0 mcg de eritromicina base por ml).

5.2.1.4 Preparación del microorganismo de prueba.

Cultivar la cepa de *Sarcina lutea* en tubos con 10.0 ml de medio antibiótico No. 1 inclinado, incubar a 32 - 35°C durante 24 horas. Lavar el desarrollo de un tubo con 3.0 ml de solución salina esterilizada. - Pasar esta suspensión de microorganismos a una botella de Roux conteniendo 250.0 ml de medio antibiótico No. 1, extender la suspensión en toda la superficie del medio con ayuda de perlas de vidrio esteriliza-

das. Incubar la botella de Roux 24 horas a 32 - 35°C. Lavar el crecimiento resultante con 50.0 ml de solución salina esterilizada. Diluir esta suspensión de tal manera que una dilución 1:40 de ella, de una transmisión de 25 por ciento en un fotocolorímetro con filtro a 580 mμ limicras y un tubo de 13.0 mm de diámetro. Hacer placas de prueba para determinar la cantidad de suspensión que debe añadirse a 100.0 ml de medio (Generalmente 1.5 ml), para dar zonas de inhibición claras y definidas de tamaño apropiado.

5.2.1.5 Preparación de las placas.

Preparar las placas el mismo día que se van a usar. Colocar 21.0 ml de medio antibiótico No. 11 en cada caja Petri, extender el medio uniformemente y dejar solidificar. Fundir la cantidad de medio antibiótico - No. 11 necesaria y enfriar a 48 - 50°C, añadir la cantidad necesaria de suspensión de *Sarcina lutea* según las experiencias de la preparación del microorganismo de prueba y mezclar para obtener una suspensión homogénea. Añadir a cada caja Petri 4.0 ml de medio inoculado y distribuirlo uniformemente, cubrir con las tapas de porcelana y dejar solidificar. Cuando el medio ha solidificado colocar seis cilindros en la superficie del agar inoculado a intervalos de 60° aproximadamente sobre un radio de 2.8 cm.

5.2.1.6 Preparación de la curva patrón.

Preparar las siguientes diluciones a partir de la solución patrón de 10.0 mcg por ml de eritromicina usando solución reguladora de fosfato de potasio 0.1 M pH 8.0

6.4 ml a 100 ml (0.64 mcg/ml)

8.0 ml a 100 ml (0.80 mcg/ml)

10.0 ml a 100 ml (1.0 mcg/ml)

12.5 ml a 100 ml (1.25 mcg/ml)

15.6 ml a 100 ml (1.56 mcg/ml)

Usar 4 series de 3 cajas Petri cada una.

Serie 1: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 0.64 mcg/ml.

Serie 2: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 0.80 mcg/ml.

Serie 3: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 1.25 mcg/ml.

Serie 4: Llenar 3 cilindros alternados de cada caja, con dilución patrón de 1.56 mcg/ml.

Llenar los 3 cilindros restantes de cada caja, de cada serie, con dilución patrón de 1.00 mcg/ml.

Incubar las placas durante 16 - 18 horas a 32 - 35 °C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 1.00 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de cada dilución patrón. Corregir las lecturas de cada una de las series 1, 2, 3 y 4 aumentando o disminuyendo la misma diferencia que exista entre el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 1.00 mcg/ml y el promedio de las 9 lecturas de esa misma dilución en cada serie. Ejemplo: Si el promedio de las 36 lecturas de la dilución patrón de 1.00 mcg/ml es de 16.5 mm y el promedio de esa dilución en la serie 4 es de 16.3 mm, la corrección será más 0.2 mm. Si el promedio de lecturas de la dilución de concentración más alta de esas mismas 3 cajas es de 16.9 mm, el diámetro corregido es entonces de 17.1 mm.

Graficar los diámetros corregidos, incluyendo el promedio de los 36 diámetros de la concentración de referencia en papel semilogarítmico de 2 ciclos, usando la concentración del antibiótico en mcg/ml como la ordenada y el diámetro de las zonas de inhibición como la abscisa.

La curva patrón puede también obtenerse calculando los valores máximo y mínimo por medio de las siguientes ecuaciones:

$$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5} \quad H = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$$

Donde:

L = Diámetro de la zona calculado para la concentración más baja de la curva.

H = Diámetro de la zona calculado para la concentración más alta de la curva.

c = Promedio del diámetro de las zonas de 36 lecturas del punto de referencia de la solución patrón de 1.0 mcg/ml.

a = Valor promedio corregido para la dilución de 0.64 mcg/ml.

b = Valor promedio corregido para la dilución de 0.80 mcg/ml.

d = Valor promedio corregido para la dilución de 1.25 mcg/ml.

e = Valor promedio corregido para la dilución de 1.56 mcg/ml.

5.2.1.7 Procedimiento.

Preparar la solución problema de la misma forma que la solución patrón de referencia (5.2.1.3), haciendo al final otra dilución de 10.0 ml a 100 ml con la misma solución reguladora para tener una concentración final estimada en 1.00 mcg de eritromicina base por ml. Usar 3 placas preparadas como se indica en (5.2.1.5). Llenar 3 cilindros alternados de cada placa con dilución patrón de referencia de 1.0 mcg/ml y los otros 3 cilindros con dilución problema. Incubar las placas durante 16-18 horas a 32 - 35°C y medir el diámetro de las zonas de inhibición. Sacar el promedio de las lecturas de la solución patrón y el de las lecturas de la solución problema. Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor mayor que el promedio de lecturas de la solución patrón, agregar la diferencia al diámetro de la dilución de 1.0 mcg/ml en la curva patrón, Si el promedio de lecturas de la solución problema tiene un valor menor que el promedio de lecturas de la solución patrón, restar esta diferencia al diámetro de la dilución de 1.00 mcg/ml en la curva patrón.

Leer en la curva la concentración correspondiente a estos valores corregidos de diámetros de las zonas. Multiplicar la concentración por el factor de dilución apropiado para obtener el contenido de antibiótico en la muestra.

5.3 Determinación del contenido de estearato de eritromicina.

5.3.1 Aparatos y equipo.

Potenciómetro

Equipo común de laboratorio.

5.3.2 Materiales y reactivos.

Cloroformo

Acido acético glacial

Acido perclórico 0.1 N

5.3.3 Procedimiento.

Extraer una cantidad exactamente pesada de 0.5 gr de muestra con 30.0 ml de cloroformo y 3 porciones más sucesivas de 25.0 ml cada una, filtrar cada extracción y el filtro se lava con cloroformo. Evaporar el combinado de filtrados y lavados en baño de vapor hasta cerca de 30.0 ml. Adicionar 50.0 ml de ácido acético glacial, previamente neutralizado con ácido perclórico 0.1 N, titular con la misma solución de ácido perclórico 0.1 N, determinando el punto final potenciométricamente.

5.4.4 Cálculos.

Determinar el contenido de estearato de eritromicina, considerando que cada mililitro de ácido perclórico 0.1 N es equivalente a 0.1018 gr de estearato de eritromicina, calculado con referencia a estearato de eritromicina anhidra.

5.4 Determinación del contenido de ácido esteárico libre.

5.4.1 Aparatos y equipo:

Potenciómetro

Equipo común de laboratorio.

5.4.2 Materiales y reactivos.

Alcohol al 95 por ciento

Hidróxido de sodio 0.1 N

Solución de fenolftaleína (1.0 por ciento en alcohol).

5.4.3 Procedimiento.

Disolver 0.40 gr de muestra en 50.0 ml de alcohol al 95 por ciento, previamente neutralizado con hidróxido de sodio 0.1 N y unas gotas de solución de fenolftaleína como indicador, titular con hidróxido de sodio 0.1 N, determinando el punto final potenciométricamente.

5.4.4 Cálculos.

Calcular el contenido de ácido esteárico, considerando que la diferencia del volumen requerido para cada gramo de muestra de hidróxido de sodio menos el volumen de ácido perclórico 0.1 N requerido para cada gramo de muestra en la prueba para contenido de estearato de eritromicina. Calcular el contenido de ácido esteárico libre en la muestra, considerando que cada mililitro de la diferencia es equivalente a 0.02845 gr de ácido esteárico.

5.5 Determinación del contenido de estearato de sodio.

5.5.1 Aparatos y equipo.

Cápsulas de platino

Horno o mufla

Equipo común de laboratorio.

5.5.2 Materiales y reactivos.

Acido sulfúrico.

5.5.3 Procedimiento.

Humedecer con ácido sulfúrico 2.0 gr de muestra en una capsula de platino, incinerar suavemente, volver a humedecer con ácido sulfúrico e incinerar a 800°C, enfriar y pesar.

5.5.4 Cálculos.

Calcular el contenido de estearato de sodio, considerando que cada gramo del residuo de la ignición es equivalente a 4.317 gr de estearato de sodio.

5.6 Residuo a la ignición.

5.6.1 Aparatos y equipo.

Mufla-horno
Crisoles de porcelana
Desecador
Equipo común de laboratorio.

5.6.2 Materiales y reactivos.

Acido nítrico
Acido sulfúrico.

5.6.3 Procedimiento.

Colocar aproximadamente 1.0 gr de muestra exactamente pesada en un crisol de porcelana previamente tarado y a peso constante, someter a ignición cuidadosamente a baja temperatura hasta que esté enteramente carbonizada. El crisol puede cubrirse con una tapa de porcelana durante el carbonizado. Adicionar 2.0 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico al contenido del crisol, calentar cuidadosamente hasta desprendimiento de humos blancos, enseguida incinerar de preferencia en una mufla-horno entre 500 y 600°C hasta incineración total. Enfriar el crisol en un desecador y pesar.

5.6.4 Cálculos.

Del peso del residuo obtenido, calcular el porcentaje de cenizas sulfatadas.

5.7 Determinación de pH.

Determinar el pH de una suspensión acuosa de estearato de eritromicina al 1.0 por ciento, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma -- DGN-D-14 en vigor.

5.8 Determinación del contenido de agua.

Hacer la determinación del contenido de agua en una muestra de aproximadamente 200.0 mg por el método de Karl Fisher, de acuerdo al procedimiento indicado en la norma DGN-K-119-1965.

5.9 Prueba de cristalinidad.

5.9.1 Aparatos y equipo.

Microscopio con luz polarizada
Equipo común de laboratorio.

5.9.2 Materiales y reactivos.

Aceite mineral.

5.9.3 Procedimiento.

Mezclar en un portaobjetos una pequeña cantidad de la muestra con una o dos gotas de aceite mineral. Cubrir el portaobjetos y observar al microscopio polarizado.

5.9.4 Interpretación de resultados.

Los cristales de estearato de eritromicina, muestran partículas en las cuales se observa el fenómeno de birrefringencia y posiciones de extinción por movimiento circular del portaobjetos.

5.10 Prueba de toxicidad anormal.

5.10.1 Aparatos y equipo.

Cánula u otro dispositivo útil estéril
Equipo común de laboratorio.

5.10.2 Materiales y reactivos.

Ratones blancos de 18.0 a 25.0 gr de peso, no usados previamente en otra prueba similar.

Polisorbato 80 al 33.0 por ciento

Agua destilada estéril (Preparada con agua recientemente destilada. Es Es terilizar en autoclave a 121°C durante 20 minutos).

5.10.3 Procedimiento.

Transferir de 1.0 a 1.1 gr de muestra exactamente pesada a un mortero, adicionar una gota de polisorbato 80 al 33.0 por ciento y moler perfectamente, adicionar lentamente suficiente agua destilada estéril para -

hacer una suspensión que contenga 80.0 mg de eritromicina base por ml. Administrar por vía oral por medio de una cánula estéril u otro dispositivo estéril 0.50 ml a cada uno de los ratones (cinco en total) y observarlos durante 48 horas.

5.10.4 Interpretación de resultados.

Si ningún animal muere en el período de observación de 48 horas la muestra problema pasa la prueba. Si uno o más animales mueren dentro de las 48 horas de observación, repetir la prueba una o más veces, usando para cada prueba cinco o más ratones con un peso de 20.0 gr (\pm 0.5 gr) cada uno; si el total de ratones muertos dentro de las 48 horas de observación no es mayor del 10.0 por ciento del número total de animales probados, incluyendo la prueba original, la muestra pasa la prueba.

6. Bibliografía.

Federal Register, Vol 39, No. 105 - Mayo 30, 1974. 452-35

British Pharmacopeia 1973 - pags 188 - 189.

United States Pharmacopeia XIX
1975 Pags. 177 - 178.

Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos
Cuarta edición 1974 Pags. 751 - 752.

The United States Dispensatory
Vigésima séptima edición
Arthur Osol - Robertson Pratt
J.B. Lippincott Company
Philadelphia. Toronto. Pags. 487-488.

AMA Drug Evaluations
Segunda edición
Publishing Sciences Group Inc.
Acton, Massachusetts. Pags. 529 - 531.

Remington's Pharmaceutical Sciences
Décima cuarta edición, 1970
Mack Publishing Co.
Easton, Pennsylvania. Pags. 1217.

Assay Methods of Antibiotics
A Laboratory Manual
Donald C. Grove and William A. Randall
Medical Encyclopedia Inc.
New York N.Y. 1955 Pag. 100.

COMENTARIOS.

El principal objetivo de este trabajo es: Por medio del control de calidad para estos medicamentos como para otros en los que se está trabajando se unifique un solo control de dichos medicamentos, y esto se puede lograr por medio de los productores y consumidores de estos productos farmacéuticos y así también unificar la Industria Farmacéutica Mexicana, en lo que se refiere al control de su producción y porque no también de su acción como medicamento para fabricar mejores y efectivos medicamentos.

Por lo cual se trata de llevar a cabo mediante las Normas de calidad de los medicamentos a granel que se producen en México, pero esto entre parentesis ya que las materias primas para elaborar dichos medicamentos algunos sino todos son de importación. Por lo que primero considero se deben producir dichas materias primas en México para beneficio mismo del país.

Tomando en cuenta lo anterior podemos de todas formas llevar a cabo este proyecto, con el fin de lograr un cien por ciento en la aceptación de su calidad tomando en cuenta que son productos para consumo humano, de tal forma que sus resultados deben ser los óptimos.

Para llevar a cabo este proyecto necesariamente debe existir un organismo capaz de lograrlo que tenga la información y conocimientos adecuados sobre los medicamentos, con lo espuesto en lo anterior y con referencia en lo estipulado en el artículo 258 del Código Sanitario de los Estados Unidos Mexicanos (1973):

"Las materias primas que intervienen en el proceso de los medicamentos, llenarán los requisitos que fijen la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos y sus suplementos Oficiales".

Y como las normas fueron elaboradas basandose en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos o en Farmacopeas oficiales reconocidas aún por la Secretaría de Salubridad y Asistencia, es por consiguiente esta dependencia la encargada de elaborar dichas normas o proyectos. Porque es ella la que poseé mayor conocimiento sobre medicamentos y quién decide su distribución y consumo en México, tomando en cuenta desde luego las referencias que existan de los medicamentos para la salud humana de otros organismos en todo el mundo con los que tiene contacto así como de la CMS. (Organización Mundial de la Salud).

Por lo que la Secretaría de Industria y Comercio no es el organismo adecuado para llevar a cabo este proyecto, que aún cuando tiene relación

con la Industria Farmacéutica es con otros fines y circunstancias, tales como presupuestos de inversión, importaciones y exportaciones, estadísticas, costos, compras, ventas, precios al público, etc. Pero no en lo que se refiere al control de su elaboración, proceso de fabricación, desarrollo y acción de los medicamentos.

En opinión personal se tendrían mejores resultados si estas dependencias oficiales trabajaran juntas o llegaran a un acuerdo para el beneficio de la Industria Farmacéutica y la economía Nacional.