

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

METRONIDAZOL Y BENZOIL METRONIDAZOL
COMO SUSTANCIAS DE REFERENCIA.
DETERMINACION DE LA PUREZA EN
LOS LOTES CA 7610500 Y 2 A P

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
PRESENTA
EVA MONROY ZAMBRANO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS. TESIS 1978
ABO M.T. 225 ~~1288~~ 289
FECHA _____
ORIG. _____



Presidente: Ramón Ulacia Esteve

Vocal: Etelvina Medrano de Jaimes

JURADO ASIGNADO: Secretario: Andrés Zúñiga Padilla

1er. Suplente: Socorro Recinas Pérez

2o. Suplente: Mario Miranda Castro

Sitio donde se desarrolló el tema:

LABORATORIOS RUDEFSA

Nombre completo y firma del Sustentante:

EVA MONROY ZAMBRANO

Nombre completo y firma del Asesor del Tema:

Q.F.B. Ramón Ulacia Esteve

Nombre completo y firma del Asesor Técnico:

Q.F.B. Socorro Recinas Pérez.

A mis Padres

Con profundo agradecimiento a las siguientes personas por el
Asesoramiento para la elaboración de la presente tesis.

Q.F.B. Ramón Ulacia Esteve

Q.F.B. Socorro Recinas Pérez

Laboratorios Rudefsa.

Q.F.B. Alfredo Garzón

Q.F.B. Carmen Ruth Gutiérrez

Laboratorios Syntex.

INTRODUCCION

El Metronidazol, que químicamente es el 1-hidroxietil-2-metil-5-nitromidazol, fué descubierto en 1960 en Francia por Rohne-Poulenc y adoptado en la terapéutica como tricomonocida y lamblicida. (1)

A partir de 1969 fué empleado con brillantes resultados también en la amibiasis; esto provocó en México un rápido aumento del consumo -- del Metronidazol, tanto que las importaciones, que en 1968 fueron aproximadamente 3,000 kilos (dato oficial), en 1977 tienen que haber sobrepasado los 20,000 kilos. (2) (3)

El Metronidazol es una sustancia poco estable en solución, y además muy amarga. Por esta razón, en la Industria Farmacéutica, se ha desarrollado una suspensión acuosa, utilizando, Benzoilmetronidazol, ester -- benzoílico del metronidazol con fórmula 1-(2-benzoiloxietil)-2metil-5-nitromidazol.

Los productos a base de metronidazol, tienen actualmente en México una difusión muy amplia, ya que son considerados entre los amebicidas y tricomonocidas más eficaces; si tomamos en cuenta que en México -- constituye uno de los más graves problemas sanitarios a nivel nacional, po_

dremos darnos cuenta de la necesidad de control preciso de dichas sustancias, para que realmente cumplan con su función terapéutica.

Desde el punto de vista técnico y económico, resulta rentable la síntesis del Metronidazol y Benzoilmetronidazol, siendo necesario establecer una sustancia de referencia, que permita comparar los resultados de análisis para regular la calidad en el mercado.

Para establecer el lote que sirva como sustancia de referencia nacional, se hizo necesario analizar diferentes lotes, buscando el más puro. Las constantes fisicoquímicas y características de las sustancias seleccionadas se anotan en el cuerpo de este trabajo.

GENERALIDADES

Frecuentemente la valoración de un medicamento o de una materia prima requiere de una sustancia patrón o de referencia para obtener resultados que se puedan comparar con los valores establecidos en las especificaciones respectivas.

Las sustancias de Referencia son "sustancias que han sido preparadas para tener una pureza definida o una acción biológica conocida y son usadas cuando los fármacos son analizados física, biológica o químicamente". (4)

Los "Ensayos de Pureza", son los ensayos y pruebas fisicoquímicas necesarias para investigar las impurezas en los fármacos y productos, cuyos resultados deben encontrarse dentro de los límites de las normas que se encuentran los libros oficiales, Farmacopeas, Códigos, etc. (5)

Hasta ahora, estos patrones o sustancias de Referencia se han obtenido en el extranjero, ya sea de Instituciones Internacionales (OMS), o farmacopéicas (USP, BP, NF, BPC). Dichas organizaciones reconocen que las sustancias de Referencia, fueron establecidas para la identificación de preparaciones farmacéuticas por medio del espectro infrarrojo y para su

dosificación fotométrica. Para juzgar si las sustancias de referencia son satisfactorias, se les somete a los siguientes ensayos: Absorción ultravioleta e infrarroja; poder rotatorio específico, cromatografía, ensayos de pureza, -- prescripciones de la Farmacopea.

Más que identificar y cuantificar cada impureza, se estima la -- cantidad total de impurezas, utilizando por ejemplo: el análisis de solubilidad por fase o colorimetría comparativa y asegurarse por medio de ensayos apropiados que la sustancia rinde los resultados adecuados cuando es usada con el propósito al que está destinada.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció las siguientes características para las sustancias químicas Internacionales de referencia:

- a) Sustancias para las cuales hayan sido establecidos patrones internacionales, pero que sea posible definirlos por medio de métodos químicos.
- b) Sustancias químicas necesarias como patrones de trabajo para dosis y ensayos descritos en la Farmacopea Internacional.
- c) Otras sustancias químicas necesarias como patrones.

De las características de las sustancias que servían de material - de referencia, se aconsejó dar una estimación de impurezas totales. Esta cifra fué considerada útil, aún cuando no fuese de gran exactitud.

En lo concerniente a los procedimientos de la Farmacopea Internacional se decidió que las sustancias de referencia deberían caer en los siguientes casos:

- A) Cuando la identificación infrarroja fuese necesaria.
- B) Cuando los ensayos y las dosis cromatográficas fuesen indicadas en las monografías.
- C) Cuando los métodos espectrofotométricos o fotométricos fuesen indispensables para la dosificación de la sustancia. (6)

Ante la necesidad cada vez más creciente de tener en México sustancias de referencia confiables, aceptadas universalmente, asequibles fácilmente y a costos razonables, se ha constituido el Comité Mexicano de Sustancias Farmacéuticas de Referencia (COSUFAR). El objetivo del Comité es preparar, valorar y certificar sustancias farmacéuticas de referencia para que la Industria Farmacéutica Nacional pueda analizar las materias primas que utiliza y las especialidades farmacéuticas que produce, a fin de obtener productos que cumplan con los niveles de eficacia terapéutica deseados.

El comité está organizado en dos Subcomités: De Finanzas y Técnico.

El Subcomité de Finanzas está integrado por las organizaciones -

industriales patrocinadoras y su misión es proveer los fondos necesarios para el funcionamiento inicial de COSUFAR, así como encargarse de la distribución y venta de los patrones.

El Subcomité Técnico coordina las diferentes secciones que lo forman y que a continuación se enumeran:

- 1.- Métodos y Control Estadístico
- 2.- Control y Estabilidad
- 3.- Proceso
- 4.- Comprobación

La Sección de Métodos y Control Estadístico estudia los métodos analíticos a utilizarse, diseña el esquema experimental a seguir por los diferentes laboratorios participantes en el programa de sustancias de referencia y somete los resultados obtenidos a un estudio estadístico que demuestre su confiabilidad.

La Sección de Control y Estabilidad efectúa los estudios de Estabilidad de las materias primas proporcionadas por los diferentes proveedores a fin de determinar la (o las) que se utilice (n) en la preparación de las sustancias de referencia. Vigila el desarrollo de los experimentos diseñados por la Sección de Métodos y Control Estadístico para la valoración de las sustancias patrón y se encarga de recopilar datos obtenidos por los -

diferentes laboratorios.

La Sección de Proceso determina los requisitos que deben cubrir los laboratorios que intervienen en este programa, interviene directamente en la selección de los laboratorios participantes, elabora los manuales de producción correspondientes al proceso de envase, controla el envase de las sustancias patrón en los laboratorios designados para el efecto y vigila que se alcancen los niveles aceptados para el control de calidad durante el proceso de envase.

La Sección de Comprobación, al ser terminado el estudio, envía muestras a laboratorios de los centros de enseñanza superior a fin de tener una comprobación final de los datos analíticos observados.

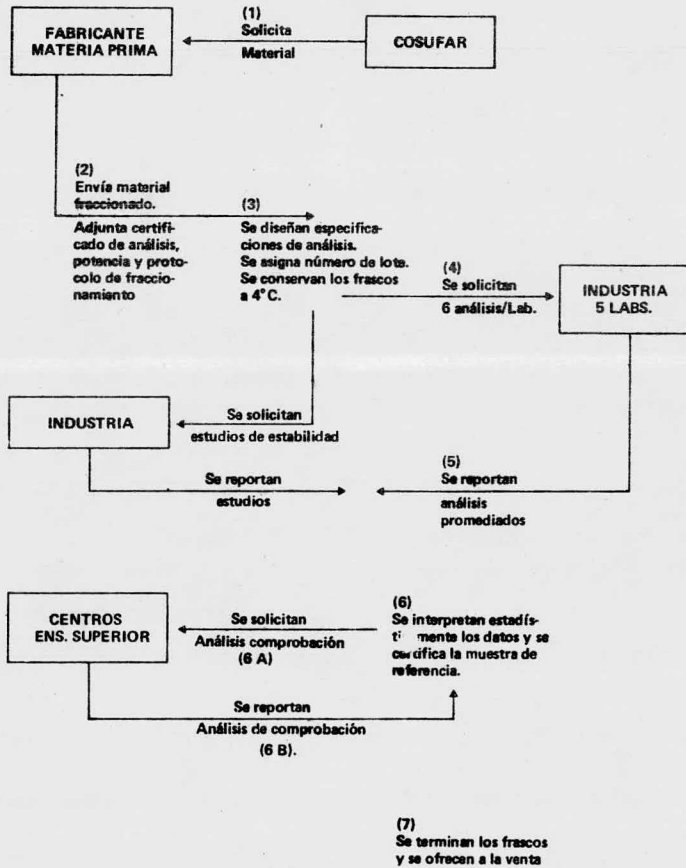
Con esto se obtienen sustancias de referencia confiables puesto que su manejo ha sido cuidadosamente vigilado y han sido analizados exhaustivamente de manera de obtener lotes uniformes que puedan ser usados por la industria y por los laboratorios de comprobación con resultados comparables.

La síntesis del Metronidazol (Lote CA 7610500), así como del benzoilmetronidazol (Lote 2AP) fueron sometidos a las etapas mencionadas con anterioridad.

A continuación se muestra esquemáticamente, todo el proceso ne

cesario para establecer un patrón de referencia: (7)

PATRONES DE REFERENCIA



PROPIEDADES FISICOQUIMICAS EXPERIMENTALES

Las propiedades físicas de las sustancias: Punto de fusión, ebullición, densidad, índice de refracción, fórmula empírica, peso molecular, solubilidad, rotación óptica y propiedades espectrales, suministran una información muy útil en la elucidación de estructuras. Las propiedades físicas de los productos dependen de la pureza de la muestra, por lo tanto para obtener la máxima utilidad de los datos medidos, las muestras deben tener un alto grado de pureza. (8)

El método más usual y sensible de análisis tanto de sólidos como de líquidos, incluye el uso de las técnicas cromatográficas, lo mismo gas-líquido, que capa fina.

La Cromatografía puede definirse como la separación de una mezcla de moléculas por distribución entre dos o más fases; una de las fases es esencialmente bidimensional (una superficie) y la fase restante, normalmente la principal está en contacto con ella, moviéndose a contracorriente. Una fase estacionaria sólida con una fase líquida móvil conduce a la Cromatografía de Adsorción. Si se emplea un gas como fase móvil se denomina Cromatografía de gas-sólido. Esta forma de análisis indicará el número-

de componentes individuales presentes, así como las cantidades relativas existentes de estos componentes. (9)

Las cromatografías en fase gaseosa se usan mucho como criterio de pureza para compuestos orgánicos. Los contaminantes, si están presentes, son revelados por la aparición de más curvas; las áreas situadas debajo de estas curvas proporcionan estimaciones aproximadas de la extensión de la contaminación. La técnica también es útil para evaluar la eficacia de los procedimientos de purificación.

Los componentes esenciales, de un aparato de cromatografía Gas-Líquido, son: Un gas transportador inerte, que pasa a través de un regulador de presión a la cámara de inyección y mezcla de la muestra. De ahí el gas transportador lleva la muestra a la columna. La columna puede estar empacada con un sólido poroso recubierto por una fina película de la fase líquida no volátil (estacionaria) o puede ser un tubo capilar largo con una fina capa de líquido en sus paredes. Los componentes de la muestra se separan a medida que pasan por la columna y uno tras otro pasan a través de un detector que manda una señal a un registrador. Finalmente, el gas pasa a través de un medidor de flujo y sale a la atmósfera. Hay un horno con termostato para la columna, el inyector y el detector.

Al evaluar la importancia de la cromatografía gas-líquido es im-

portante distinguir entre los dos papeles que desempeña. El primero es como un instrumento para efectuar separaciones; la segunda es la de proporcionar datos para identificación cualitativa, como son tiempo y volumen de retención, mientras que las alturas o áreas bajo la curva proporcionan información cuantitativa.

Los métodos Espectrométricos de análisis, reagrupan el conjunto de técnicas analíticas basadas en las interacciones de las moléculas con la energía radiante, en las regiones visible y ultravioleta. La absorción consiste en desplazar un electrón exterior de la molécula.

Las investigaciones espectrales en el Ultravioleta e Infrarrojo proporcionan útil información cualitativa, referente a la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales (como dieno carbonílico, aromático, nitro o conjugado) en compuestos orgánicos. Otra aplicación importante consiste en la detección de impurezas altamente absorbentes, en medios no absorbentes, si un pico de absorción del contaminante tiene una absorptividad, suficientemente alta, puede establecerse fácilmente en presencia de pequeñas cantidades.

Los instrumentos que miden la Transmitancia o Absorbancia, de soluciones, contienen cinco componentes básicos:

- 1) Una fuente estable de energía radiante que puede variar de

intensidad.

- 2) Un artificio que permite el empleo de una región restringida de longitudes de onda.
- 3) Recipientes transparentes para muestra y disolvente.
- 4) Un detector de radiación o transductor que convierte la energía radiante en señal medible generalmente eléctrica.
- 5) Un indicador de señal.

En estudios cuantitativos de absorción, un haz de radiación pasa a través de una muestra y se mide en seguida la intensidad de radiación transmitida. La radiación que absorbe la muestra se determina comparando la intensidad del haz transmitido cuando no hay muestra con la del haz cuando hay muestra.

Los datos espectrales, se presentan en una gran variedad de formas; para la abscisa se emplean comúnmente la frecuencia, el número de onda o la longitud de onda. La ordenada se expresa esencialmente en unidades de transmitancia o porcentaje de transmitancia, absorbancia o el logaritmo de la absorbancia.

La ecuación $\log P_0/P = bc \epsilon = A$, es la ley fundamental que rige la absorción de todos los tipos de radiación electromagnética y se conoce como Ley de Beer. El término logarítmico, es conocido como absor-

bancia y se le asigna el símbolo A , la constante ϵ se llama absorptividad molar, cuando la concentración c , se expresa en moles de absorbente por litro, y la longitud de la trayectoria b se da en centímetros.

La ecuación anterior indica que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de especies absorbentes -- cuando la longitud de la trayectoria luminosa es fija y directamente proporcional a la trayectoria luminosa cuando la concentración es fija.

La Ley de Beer describe bien el comportamiento de absorción de soluciones diluidas solamente. (9)

La región infrarroja del espectro abarca radiación de números de onda que varían de aproximadamente $13,000$ a 33 cm^{-1} , o longitudes de onda de 0.75 a $300 \mu\text{m}$. La espectrometría infrarroja, proporciona espectros que generalmente son complejos y proporcionan máximos y mínimos que pueden emplearse para fines de comparación. En utilidad, el espectro de absorción infrarroja de un compuesto orgánico representa una de sus propiedades físicas verdaderamente únicas, con la excepción de isómeros ópticos no hay dos compuestos que tengan curvas de absorción idénticas.

Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe experimentar un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento vibratorio o rotatorio. Sólo en estas circunstancias puede actuar re-

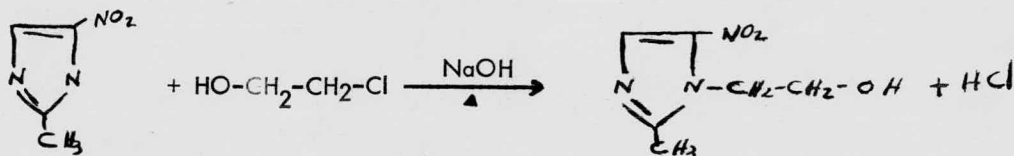
cíprocamente el campo alternativo de la radiación en la molécula y causar cambios en su movimiento.

Los datos infrarrojos suelen representarse gráficamente como porcentaje de Transmitancia. Se prefiere usar la unidad de centímetros recíprocos, cm^{-1} , para la abscisa, en vez de longitud de onda, debido a la proporcionalidad directa entre el número de onda y la energía. (10)

DETERMINACION DE LA PUREZA

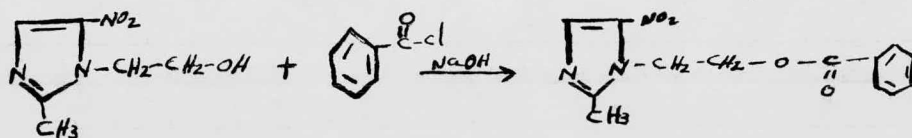
El criterio aplicado para buscar impurezas, está basado en el estudio y análisis de los productos, es decir, encontrar posibles trazas de las sustancias que les dieron origen, así como subproductos del proceso.

El Metronidazol se prepara según la patente U.S. 2944061, de la siguiente forma: el 2-metil-4-(6)-5-nitromidazol (127 g) fué calentado con 795 g de HO-CH₂-CH₂-Cl (etilen clorhidrina) durante 18 horas a 128-130°C, el exceso de etilen clorhidrina, fué eliminado al vacío, se adicionaron 300 ml de agua y se filtró la mezcla, el filtrado se hizo alcalino y se extrajo con 1 litro de cloroformo, recristalizándose con 450 ml de etanol para dar 24 g de 1-(2 hidroxietil)-2 metil 5-nitroimidazol. -
(11)



El benzoilmetronidazol, se prepara, haciendo reaccionar, cloruro de benzoilo, con metronidazol, en medio alcalino. (Reacción SCHOTEM/

BAUMANN).



Por lo antes expuesto se buscaron como posibles impurezas:

Cloruros, nitritos y nitratos, para el Metronidazol (Lote ----- 7610500) y Benzoilmetronidazol (Lote 2 AP) además en éste último, se buscó ácido benzoico, benzoatos y posibles productos de degradación así como subproductos de las síntesis y trazas de los solventes en que se recristalizaron.

A continuación se mencionan las técnicas experimentales empleadas para la determinación de las propiedades fisicoquímicas de ambas sustancias.

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Cloruros:

En la determinación de halógenos (Cloro), la presencia de nitrógeno y azufre, interfieren en estos ensayos; los sulfuros y cianuros debeben ser eliminados, antes del tratamiento con ión plata; este método consiste en acidificar con ácido sulfúrico, una disolución de una pequeña muestra

tra, seguida de un calentamiento lento, hasta ebullición, para eliminar el cianuro y ácido sulfihídrico, formado al añadir el ácido. Esta operación deberá realizarse bajo campana; deberá evitarse un gran exceso de ácido sulfúrico, ya que podría precipitar sulfato de plata de soluciones conteniendo una concentración elevada de iones sulfato.

La formación de un precipitado blanco caseoso, soluble en S.R. amoniacal e insoluble en ac. nítrico, muestran la presencia de cloruros.

Nitratos:

Cuando a una solución de nitrato es mezclada con un volumen - igual de ácido sulfúrico, la mezcla enfriada y una solución de sulfato férrico sobrepuesta, se produce una coloración café entre los dos líquidos.

Nitritos:

Unas pocas gotas de yoduro de potasio T.S. y ácido sulfúrico diluido añadido a la solución libera yodo, con la consecuente coloración azul del almidón.

Benzoatos:

Las soluciones acuosas neutras de benzoatos, tratados con S.R. - de cloruro férrico, forman un precipitado color salmón.

Resultados:

Para ambas sustancias analizadas, se obtuvieron los siguientes da
tos:

Cloruros: negativo

Nitratos: negativo

Nitritos: negativo

Benzoatos: negativo

Acido benzóico: negativo

Para la Cromatografía en capa fina, se utilizaron las siguientes -
condiciones:

Agente Revelador: Permanganato de potasio aplicado en aerosol al 1%.

Placas: Placas de vidrio de 20 x 20 cm, cubiertas con una ca-
pa, formada con 30 g. de sílica gel G en 60 ml de a-
gua, quedando una capa de 0.25 mm de grueso y seca
(a 110°C) por una hora.

Muestras: 1,0 μ l de una solución al 1% en ac. acético 2N.

Solvente: El solvente estará en la cuba por una hora, antes de --
iniciar el proceso.

Desarrollo: Ascenso, en una cuba de 21 x 21 x 10 cm, la cual de
berá estar cubierta con papel filtro para que se forme -

una atmósfera adecuada.

Tiempo de corrimiento: 30 min. aproximadamente. (12)

CROMATOGRAFIA DE GAS

Cromatograma de: Metronidazol (Lote CA 76 10500) Gráfica A.

Fecha: 13/XII/76

Origen: Cosufar

Aparato: Hewlet Packard

Gas Acarreador: Nitrógeno

Detector: Ionización de flama

Columna: Chromosorb G (soporte de Tierra diatomacea Calcinada)

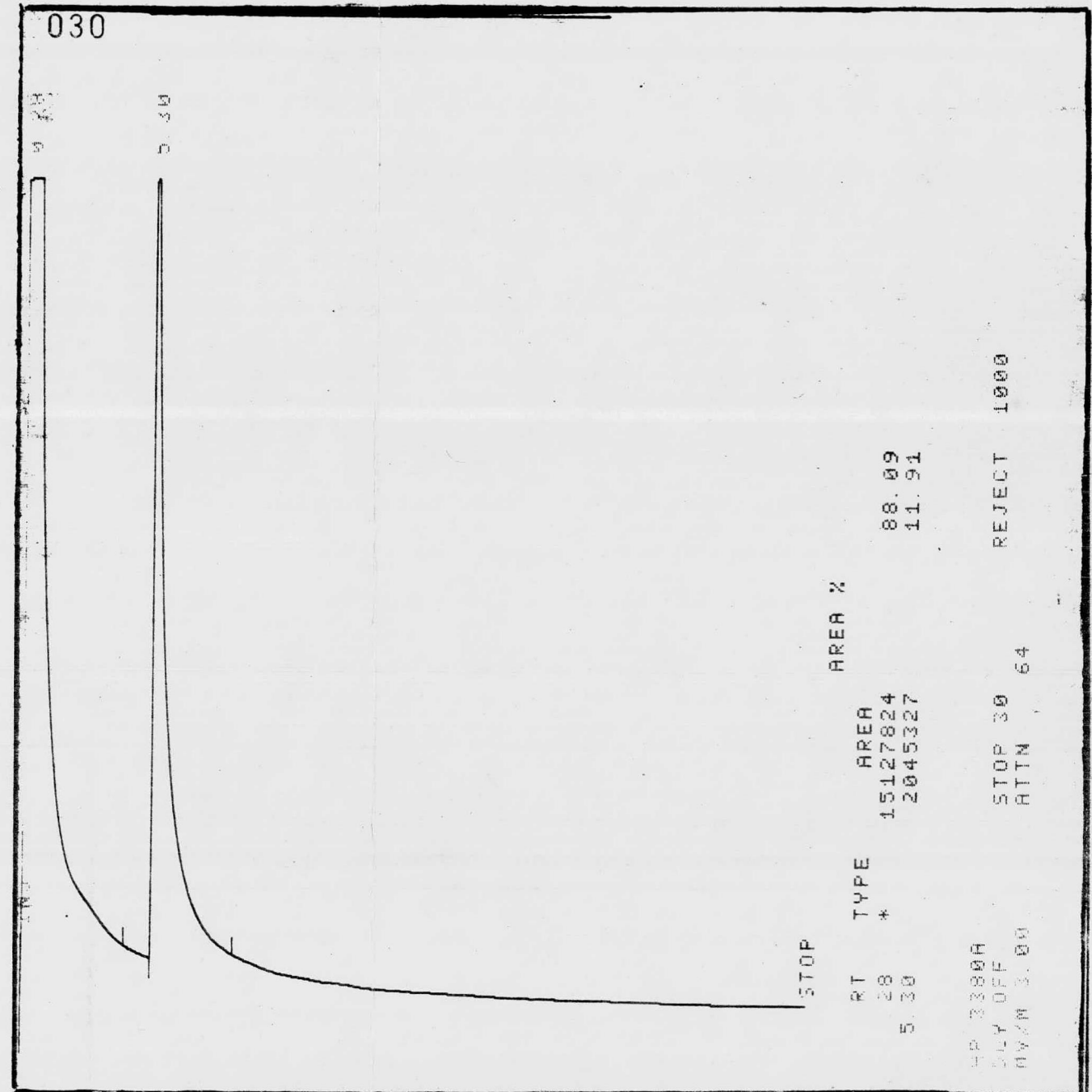
Temperatura de Inyección: 230°C

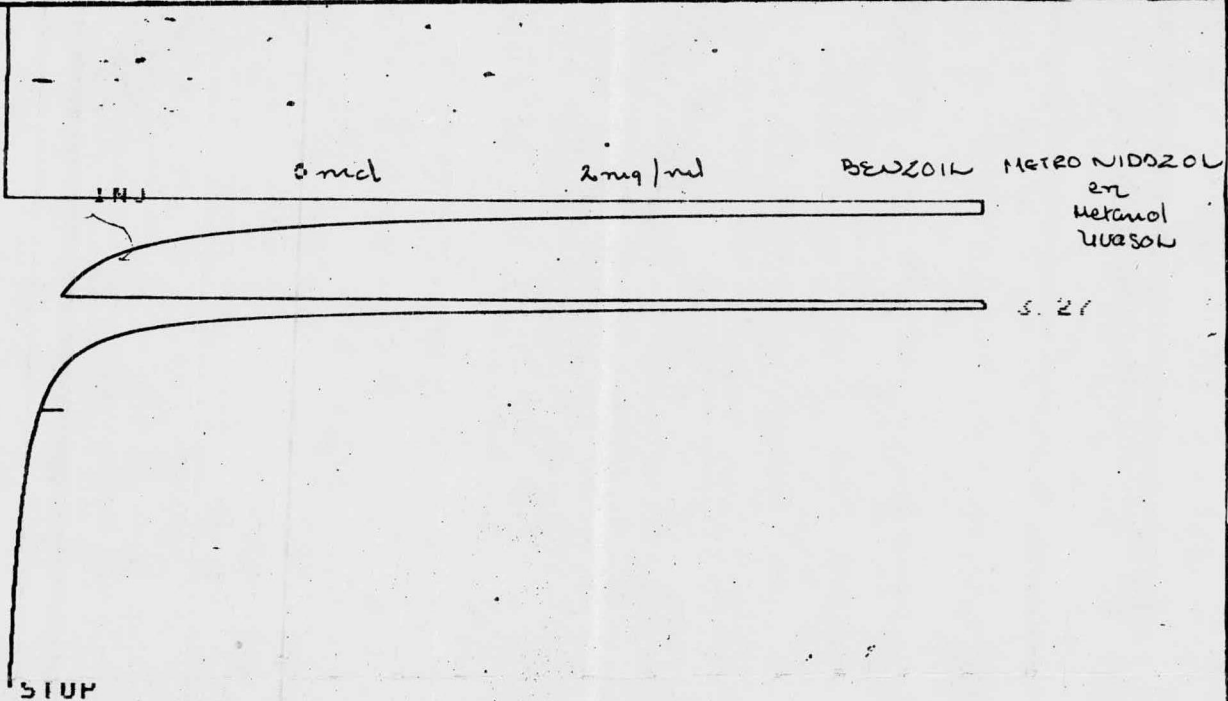
" Columna: 170°C

Muestra: 1 mg/ml

Solvente: Metanol

Tiempo de Retención: 5.30





0 ml

2 mg/ml

BENZOLIN

METRONIDAZOL
27
Metanol
UASOL

RI	TYPE	AREA	AREA %
3.27	M	7652382	100.

HP 3380H
DLY .50
MV/M 3.00

STOP 15
HI N 128

REJECT OFF

CROMATOGRAFIA DE GAS

Cromatograma de: Benzoilmetronidazol (Lote 2A P) Gráfica B

Fecha: 13/XII/77

Origen: Cosufar

Aparato: Hewlet Packard

Gas Acarreador: Nitrógeno

Detector: Ionización de flama

Columna: SE - 30 3%

Temperatura Inyección: 280°C

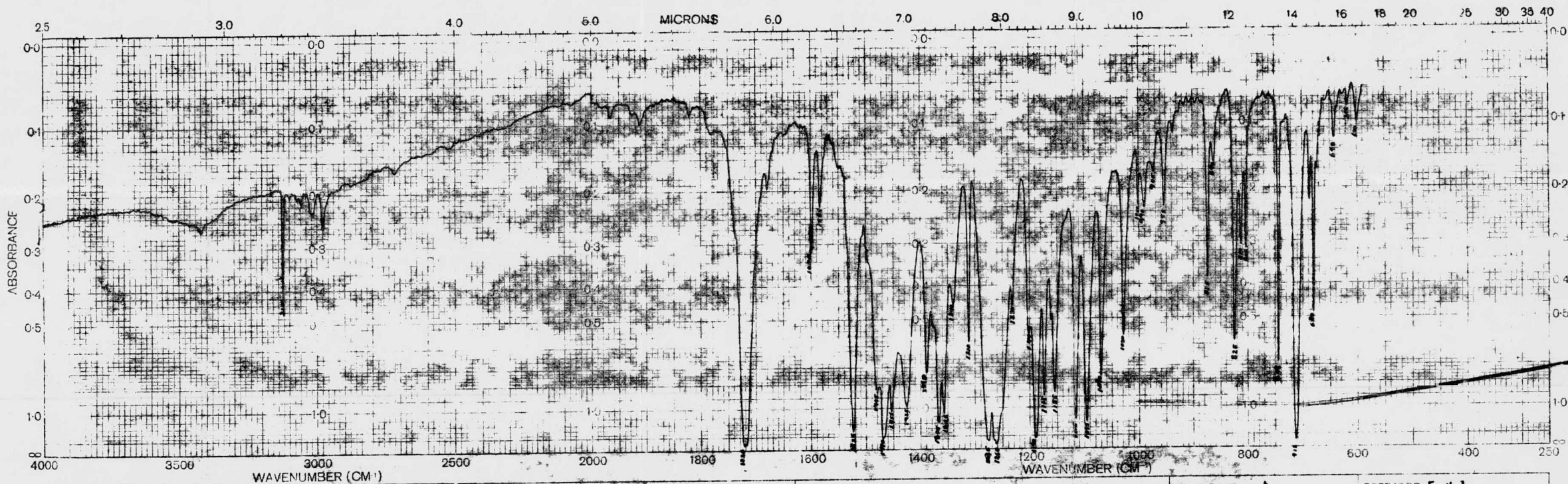
" Columna: 220°C

Muestra: 2 mg/ml

Solvente: Metanol

Tiempo de Retención: 3.27

ESPECTRO DE ABSORCION INFRARROJO
 BENZOILMETRONIDAZOL



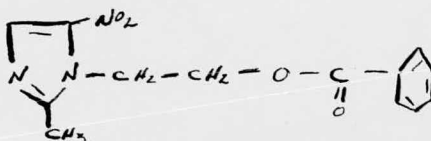
SAMPLE <i>Benzilmetronidazol</i>	SOLVENT <i>Bromuro de potasio</i>	REMARKS <chem>C1=CN(C)C=C1C(=O)C2=CC=CC=C2</chem>	SCAN SPEED <i>A</i>	OPERATOR <i>E. H. Z.</i>
ORIG <i>Cosufar</i>	CONCENTRATION <i>00.2 mg/l</i>		SLIT <i>A</i>	DATE <i>13 / 11 / 76</i>
	CELL PATH		PERKINELMER	REF No
	REFERENCE		PART No. 457-5133	

Interpretación del Espectro Infrarrojo

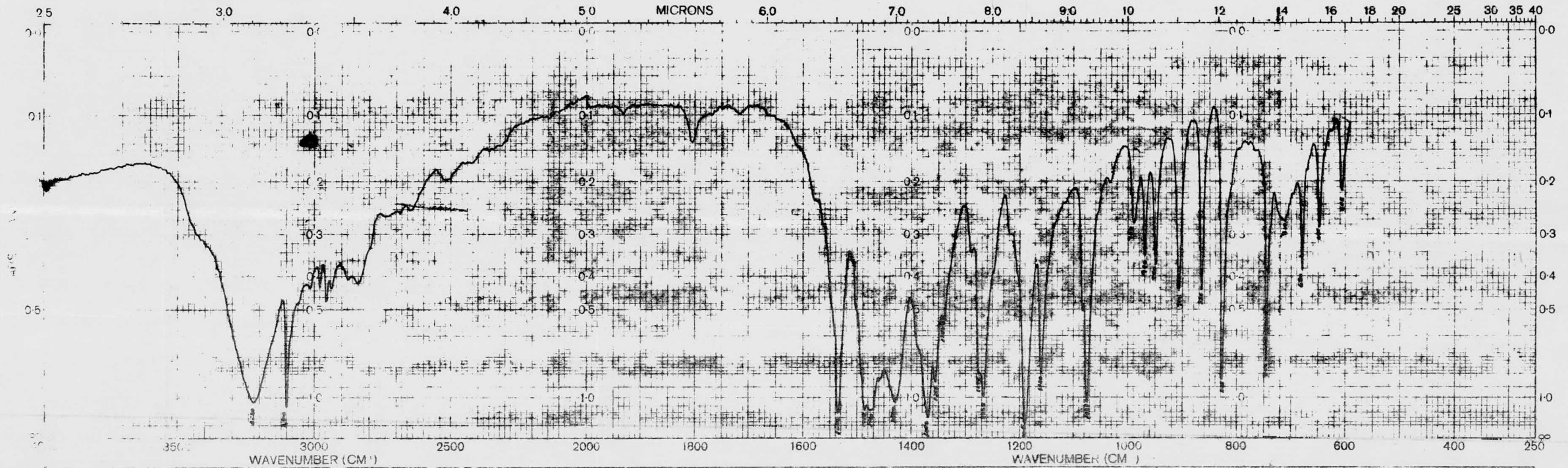
Benzoilmetronidazol

Lote 2 AP

cm ⁻¹	Grupo	Descripción del movimiento
3120	-CH ₂ -	Tensión
3020	-CH ₂ - aromático	"
1720	Ar-CO-O	"
1600	C=C aromático	"
1525		
1585		
1475	C=C en compuestos alifáticos	Flexión
1470		
1455		
1425		
1355	C-NO muy fuerte	Tensión
870	C-N	"
712	fenilo monosustituído	
610	CNO	Flexión



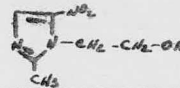
ESPECTRO DE ABSORCION INFRARROJO
METRONIDAZOL



Metronidazol
Cosugar

SOLVENT *Disolución de potasio*
CONCENTRATION *25.2 mg/g*
CELL PATH
REFERENCE

REMARKS



SCAN SPEED *4*
SLIT *B*
PERKIN-ELMER
PART No. 457-5133

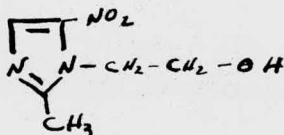
OPERATOR *E.H.R.*
DATE *12/11/56*
REF No

Interpretación del Espectro Infrarrojo

Metronidazol

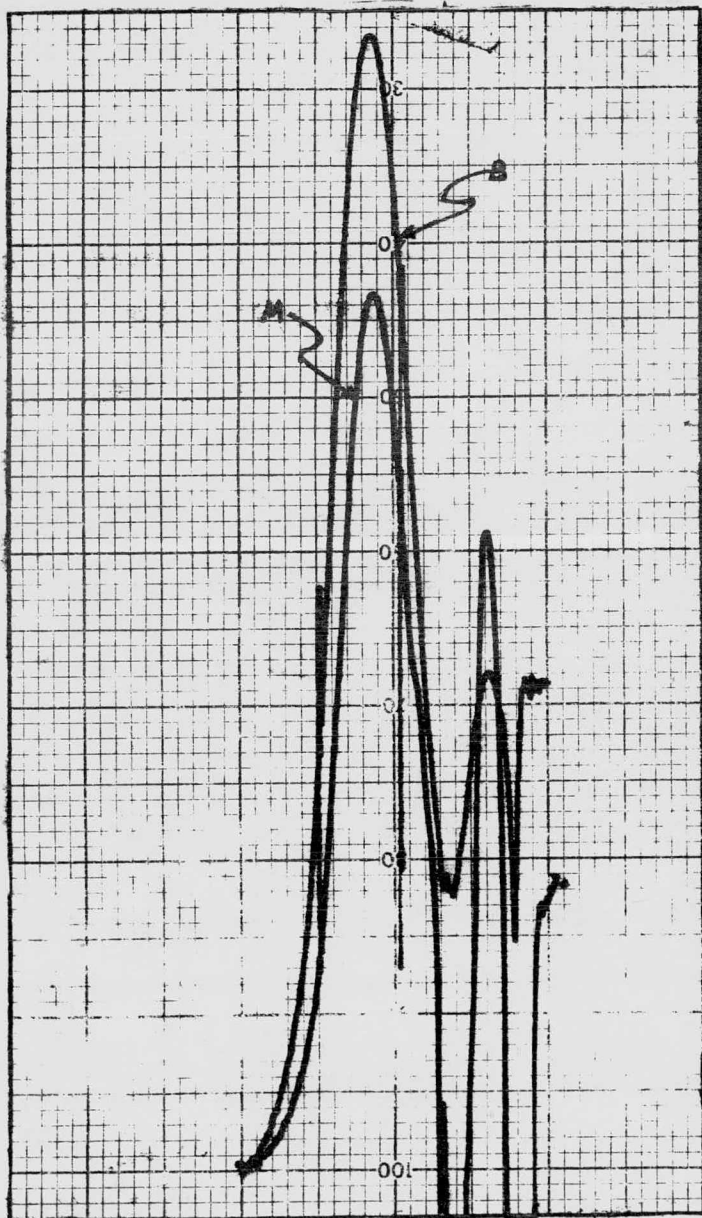
Lote A 7610500

cm ⁻¹	Grupo	Descripción del Movimiento
3220 3100	O-H	Tensión
1535	CNO muy fuerte	"
1475 1430	C=C en compuestos aromáticos	Flexión
1200 900	CH en compuestos aromáticos	"
855	CN en nitrocompuestos aromáticos	Tensión
710	CN	Flexión
645 605	CNO	Tensión



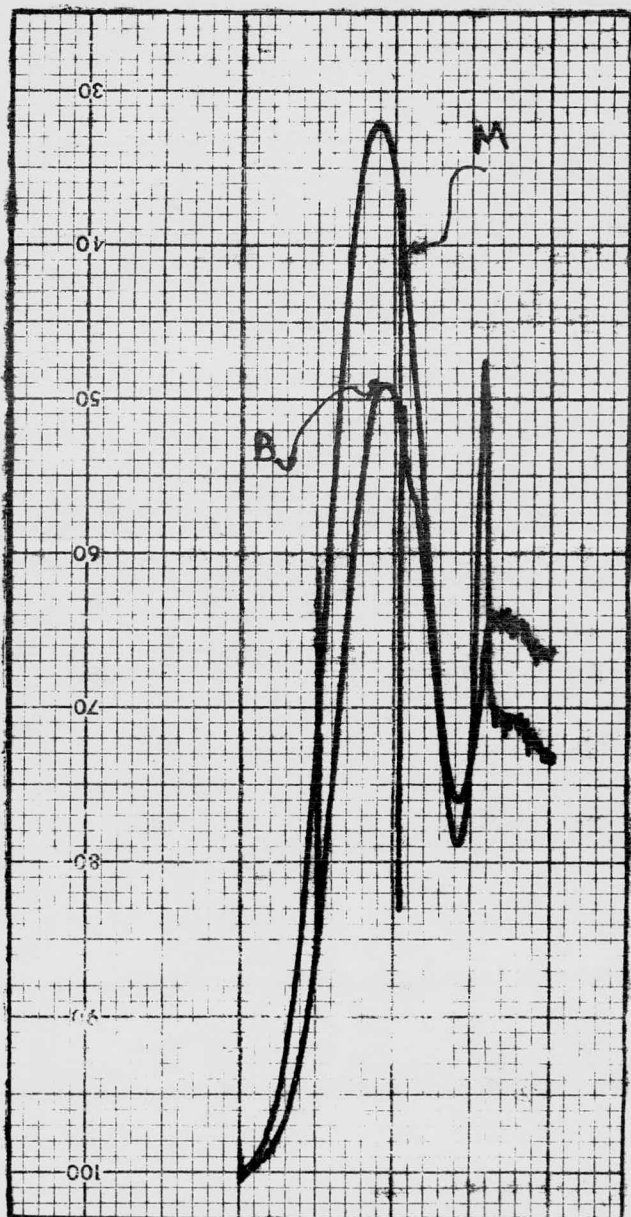
Curva de Absorción en el Ultravioleta

Solvente Eter

M = Metronidazol $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ a 310 nm = 320B = Benzoilmetronidazol $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ a 310 nm = 320.12

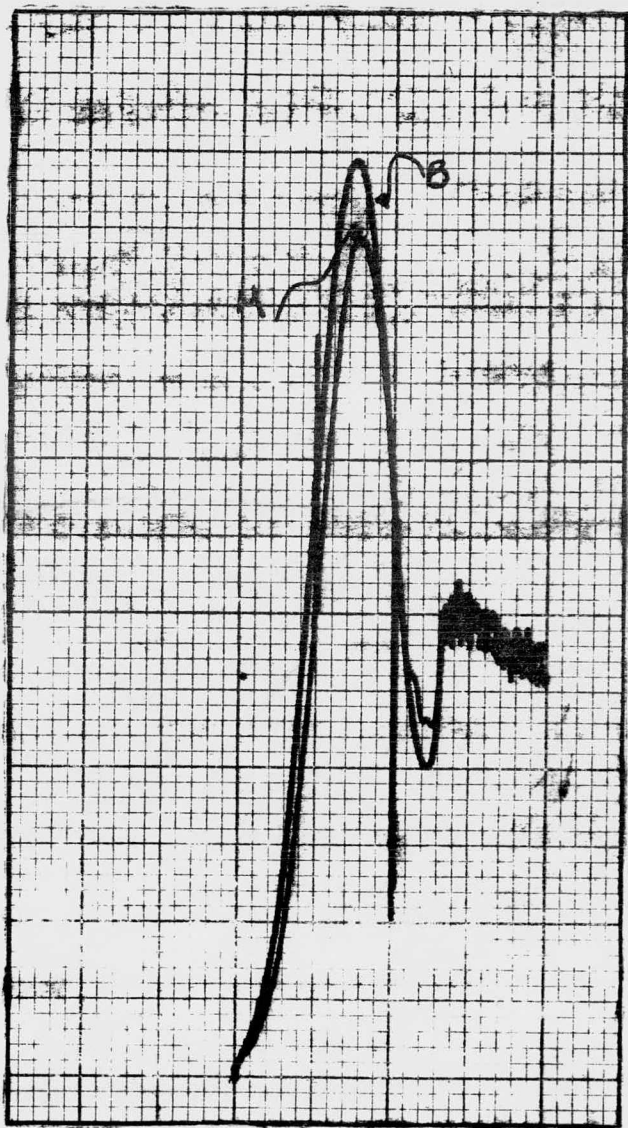
Curva de Absorción en el Ultravioleta

Solvente Cloroformo

M = Metronidazol $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ a 310 = 363.10B = Benzoilmetronidazol $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ a 310 nm = 354.40

Curva de Absorción en el Ultravioleta

Solvente Dimetilformamida

M = Metronidazol $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ a 324 nm = 395B = Benzoilmetronidazol $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ a 324 = 347.4

IDENTIFICACION Y VALORACION DE NITROGENO

Técnica Microkjeldahl. Se utiliza para valorar el nitrógeno total con carácter amoniacal.

Pesar una cantidad que contenga aproximadamente de 2 a 3 mg de Nitrógeno, pasar a un matraz de Kjeldahl y agregar un gramo de la mezcla de polvos obtenida de mezclar 10 partes de sulfato de potasio y una parte de sulfato cúprico; en caso de quedar adherida la muestra al cuello del matraz puede bajarse con agua usando chorro fino. Agregar con cuidado 7 ml de ácido sulfúrico concentrado, dejándose escurrir por las paredes del matraz, en seguida y mientras se hace girar el matraz agregar con mucha precaución 1 ml de peróxido de 30%, resbalándolo por las paredes del matraz. Calentar el matraz a flama directa hasta que adquiera una coloración azul pálida y las paredes del matraz estén libres de materia orgánica.

Enfriar y agregar con cuidado 20 ml de agua, conectar el aparato de destilación por arrastre de vapor. A través del embudo, agregar 30 ml de solución al 40% de hidróxido de sodio y efectuar la destilación teniendo el aparato herméticamente cerrado. Recibir el destilado en el seno de 15 ml de una solución bórico al 5% a la que se ha agregado unas gotas

tas de S.I. de rojo de metilo. Continuar la destilación hasta tener 80 a 100 ml de destilado. Retirar el matraz de absorción lavar el extremo del refrigerante con una pequeña cantidad de agua y valorar el destilado con una solución de ac. sulfúrico 0.02 N.

Técnica MacroKjeldahl. Se utiliza, para conocer la cantidad de nitrógeno total en la muestra.

Pesar una muestra que contenga aproximadamente 150 mg de nitrógeno, pasar a un matraz de Kjeldahl de 500 ml y adicionar 25 ml de ac. sulfúrico en el cual se ha disuelto previamente 1 gramo de ácido salicílico. Mezclar el contenido del matraz dejar en contacto por 30 minutos, con agitación frecuente. A la mezcla adicionar 5 g de tiosulfato de sodio en polvo, mezclar perfectamente y adicionar 0.5 g. de sulfato cúprico en polvo; inclinar el matraz en un ángulo de 45° y calentar a ebullición y mantener el calentamiento hasta que la solución adquiera una coloración verde que permanezca por lo menos 30 min. Dejar enfriar, adicionar con cuidado 150 ml de agua, mezclar el contenido del matraz y dejar enfriar. Adicionar con cuidado 100 ml de hidróxido de sodio al 40% de tal manera que forme una capa debajo de la solución ácida. Adicionar Zn granulado y conectar el matraz a un aparato de destilación por arrastre de vapor y recibir el destilado en un matraz redondo de 500 ml que contenga 50 ml -

de una solución de ácido bórico al 5%. Mezclar el contenido del matraz - Kjeldahl, haciendo rotar el matraz y empezar la destilación, terminando cuando se haya destilado las dos terceras partes del matraz. Al terminar - agregar al matraz 2 ó 3 gotas de S.I. de rojo de metilo y titular con ácido sulfúrico 0.5 N.

RESULTADOS OBTENIDOS

Técnica Microkjedahl

Metronidazol (Lote 7610500 C A)

Volumen de ácido sulfúrico gastado en la valoración: 36.3 ml

Normalidad del ácido sulfúrico: 0.021274

Equivalente químico: 0.014

Peso de la muestra: 0.1231 g

$$\% N = \frac{36.3 \text{ ml} \times 0.021274 \times 0.014 \times 100}{0.1231 \text{ g}} = 8.184 \%$$

Benzoilmetronidazol (Lote 2 AP)

Volumen de ácido sulfúrico gastado en la valoración: 13.2 ml

Normalidad del Acido sulfúrico: 0.21274

Equivalente químico 0.014

Peso de la muestra: 0.0771 g

$$\% N = \frac{13.2 \text{ ml} \times 0.021274 \times 0.014 \times 100}{0.0771 \text{ g}} = 5.099 \%$$

NOTA : Los datos obtenidos, no corresponden con el porcentaje teórico.

Técnica Macrokjeldahl

Metronidazol (Lote CA 7610500)

Volumen de ácido sulfúrico gastado en la valoración: 23.5 ml

Normalidad del ácido sulfúrico: 0.448825

Equivalente químico: 0.014

Peso de la muestra: 0.6019 g

$$\% N = \frac{23.5 \times 0.448825 \times 0.014 \times 100}{0.6019} = 24.53 \%$$

Benzoilmetronidazol (Lote 2 AP)

Volumen de ácido sulfúrico gastado en la valoración: 15 ml

Normalidad del ácido sulfúrico: 0.448825

Equivalente químico: 0.014

Peso de la muestra: 0.600 g

$$\% N = \frac{15 \times 0.448825 \times 0.014 \times 100}{0.600} = 15.7\%$$

BENZOILMETRONIDAZOL

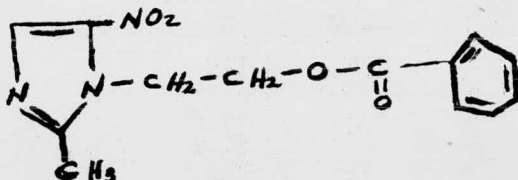
Lote: 2 AP

Origen: Cosufar

Fecha: 1o. al 30 de noviembre de 1976.

Descripción: Polvo fino de color amarillo pálido, de olor aromático que se oscurece por exposición a la luz.

Fórmula:



Peso Molecular 275.13 g.

Identidad:

- A En baño maría, se calienta durante 5 min aprox. 10 mg de la sustancia, con una mezcla de agua, 0.25 ml de HCL y 10 mg de Zinc, se filtra, se enfría, se agrega 1 ml de solución 1 : 20 en ac. sulfámico. A 1 ml de esta solución se agrega 1 ml de S.R. de 2 naftil, se produce una coloración roja intensa. (Cumple)
- B Se disuelve aprox. 30 mg de la sustancia en 2 ml de S.R. - NaOH, calentando suavemente; se produce una coloración ro

ja intensa. (Cumple)

- C Disuelva cerca de 150 mg de la sustancia, en 10 ml de trinitrofenol T.S. déjelo reposar 30 min; lave el precipitado obtenido, con pequeñas cantidades de agua fría, utilizando succión y seque a 75°C por hora, el derivado funde a: 85°C.
- D Espectro de absorción infrarroja de una dispersión de bromuro exhibe un máximo similar al de una sustancia de referencia.

Solubilidad

1 en 100 de agua

1 en 200 de etanol

1 en 250 cloroformo

1 en 10 de Dimetilformamida

Punto de Fusión: 98 - 100°C (funde c/descomposición)

pH de una solución al 1 por ciento = 4.4

Pérdida al secado = 0.02181 por ciento (3 horas a 65°C y 28 mm de Hg)

Humedad = 1.27 por ciento (Karl Fisher)

Residuo a la ignición: no más de 0.1 por ciento (cumple)

Metales Pesados: 0.005 por ciento (cumple)

Cromatografía en Capa Fina: Silica gel G: Amoniaco; Agua (1,5,100)

Rf: 0.688 sin manchas adicionales o residuales.

Valoración: Por el método de titulación no acuosa, utilizando una cantidad de sustancia exactamente pesada, 10 ml de ácido acético glacial y 1-naftol benceína como indicador. Cada ml de ácido perclórico N/10 es equivalente a 0.027513 gramos de $C_{13}H_{12}N_3O_4$

Cálculos y Resultados:

ml de ac. perclórico gastados para el blanco = 0.01

ml de ac. perclórico gastados para la titulación ; 25 ml

peso de la muestra = 0.6413 g

Normalidad del ac. perclórico = 0.092791

$$\% = \frac{0.092791 \times 25 \text{ ml} \times 0.275}{0.6413} = 99.48$$

METRONIDAZOL:

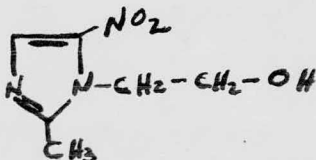
Lote CA7610500

Origen: Cosufar

Fecha: 1o. al 30 de Noviembre de 1976.

Metronidazol. 2 metil-5-nitroimidazol-1-etanol; 2 metil-5-nitro-imidazol-
etanol; 1- (etilol) -2-metil-5-nitro-3-azopirrol

Fórmula:



Descripción: Polvo cristalino blanco o amarillo pálido, con un olor y sabor ligeramente amargo. Se oscurece cuando se expone a la luz.

Identidad:

- A En baño maría, se calienta durante 5 min aprox. 10 mg de la sustancia, con una mezcla de agua, 0.25 ml de HCl y 10 mg de zinc, se filtra, se enfría, se agrega 1 ml de una solución recientemente preparada de nitrito de sodio y se destruye el exceso de nitrito con una solución 1:20 en ac. sulfámico. A 1 ml de esta solución se agrega 1 ml de S.R. de 2-naftil, se produce una coloración roja intensa (cumple).

- B Se disuelve aprox. 30 mg de la sustancia en 2 ml de S.R. de NaOH, calentando suavemente; se produce una coloración roja intensa. (Cumple)
- C Disuelva cerca de 150 mg de la sustancia, en 10 ml de trinitrofenol T.S. déjelo reposar por 30 min; lave el precipitado-obtenido, con pequeñas cantidades de agua fría, utilizando succión y seque a 105°C por una hora, el derivado funde a: 146 - 148°C.
- D La absorción U.V., en el rango de 230 a 350 de una celda de 1 cm de una solución 0.001% de ac. clorhídrico 0.1 N - exhibe un máximo sólo a 277 m con una extinción cercana a 0.38. (Cumple)
- E Espectro de Absorción Infrarrojo, de una disposición de Bromuro de potasio, exhibe un máximo similar a una sustancia de referencia. (Cumple)
- F Cromatografía de Gas: Tiempo de Retención 5.30.
- G Cromatografía en Capa Fina: Sílica gel G: Amoniaco; Metanol; Agua (1,5.100) Rf: 0.64. Sin manchas adicionales o residuales.

1 en 200 de etanol

1 en 250 de cloroformo

1 en 10 de Dimetilformamida

Punto de Fusión: 161 - 162°C

pH de una solución al 1 por ciento = 5.7

Pérdida al secado: 0.04282 por ciento

Humedad: 0.09 por ciento

Residuo a la ignición: (no más de 0.1 por ciento)

Metales pesados: 0.005 por ciento

Valoración: Por el método de titulación no acuosa, utilizando aproximadamente exactamente pesados, 10 ml de ácido acético glacial y 1 -naftol benceña como indicador. Cada ml de ácido perclórico n/10 es equivalente a 0.01712 gramos de $C_6 H_9 N_3 O_3$.

ml de ácido perclórico gastados en la titulación = 7.25 ml

ml de ácido perclórico gastados en el blanco = 0.01 ml

peso de la muestra = 0.1188 g

Normalidad del ácido perclórico = 0.0955133

$$\% = \frac{7.24 \times 0.0955133 \times 0.1712 \times 100}{0.1294} = 99.67$$

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Los resultados de las técnicas analíticas para buscar: cloruros, nitritos, nitratos, ácido benzoico, benzoatos y trazas de solventes de recristalización, son negativos, tanto para el Metronidazol (Lote CA 7610500) como para el Benzoilmetronidazol (Lote 2 AP)

A partir de los Cromatogramas de Gas, podemos observar, que - las curvas, están perfectamente definidas, no encontrándose trazas de impu- rezas, que podrían manifestarse en las curvas, mostrándose como pequeñas - elevaciones.

Al realizarse la Cromatografía en Capa Fina, se observó, que los corrimientos de las muestras fueron bastante uniformes, ya que no se presen- taron manchas difusas, sino perfectamente definidas.

En las curvas de absorción ultravioleta de las muestras en dife-- rentes solventes, no se hacen presentes impurezas que tengan absortividad - en las longitudes de onda seleccionadas.

Los datos obtenidos en comparación con las normas farmacopei--

cas se encuentran dentro de los límites establecidos.

El conjunto de los datos experimentales obtenidos, de las técnicas analíticas prácticas, para el Metronidazol Lote CA 7610500 y Benzoil-Metronidazol Lote 2 AP, nos llevan a la conclusión, de que ambas sustancias cumplen con los requisitos establecidos para su uso como sustancia de referencia.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Durel P. Coiture J. and Bassaullet M.I.
Br. J. Veren Dis 43, III 1967.
- 2) J. Su Aguilar.
Monitor para el consumo de Medicamentos para el Sector Gubernamental. Vol. 2. 1976.
- 3) Mercado Farmacéutico.
IMSS Vol. 10
1976 México.
- 4) Farmacopea Japonesa
Seventh Ed. Part. I
1961.
- 5) Farmacopea de los Estados Unidos.
4a. Ed. S.S.A. pág. 977.
- 6) O. Wallen.
Etalon Pour les Substances Pharmaceuticas.
Who Cronicle. Vol. 26 No. 9 pág. 450 - 454.
O.M.S.
- 7) Cosufar.
- 8) J. Pasto Carl R. Johnson. Determinación de Estructuras Orgánicas.
- 9) Douglas A. Skoog. Donald M. West.
Análisis Instrumental.
Ed. Interamericana.
Pág. 150-275.

- 10) Robert L. Pecsok y L. Donald Shields.
Métodos Modernos de Análisis Químicos.
Ed. Interamericana.
Pág. 35 - 49.
- 11) Electronic Absorption Spectroscopy.
A. E. Gillman. E.S.S.T.E.R.N.
Pág. 1 - 15
Ed. Edward Arnold (Publishers)
- 12) Koji Nakanishi
Infared Absortion Spectroscopy - Practical
Nankodo Company
Limited 1964.
- 13) Chemical Abstracts.
Vol. 52- 1961.
2944061 - 1657 h.
- 14) E.G.C. Clarke.
Isolation and Identification of Drugs.
The Pharmaceutical Press.
London 1969
Pág. 429.
- 15) The United States Pharmacopeia.
Eighteenth Revision 1970. Pág. 433.
Mack Printing Comp.
- 16) The Merk Index.
9a. Edición.
Ed. Merck & Co. Inc. 1976.
Pág. 303.
- 17) Martin Dale
The Extra Pharmacopea
Twenty Sixth Ed.
The Pharmaceutical Press.

- 18) T. Higuehi J.L. Bodin Pharmaceutical Analysis.
Interscience Publisher. London 1961.
Pág. 143-146.
- 19) S. Sigaia. Ph. P.
Quantitative Organic Analysis third Edition
E. John Willey & Sons, Inc. N.Y.
Pág. 526-35, 614-644.
- 20) K.A. Connors
A Textbook of Pharmaceutical
John Wiley & Sons Inc. London Sydney
Pág. 490-97.
- 21) Luis Gasco.
Teoría y Práctica de la Cromatografía en fase gaseosa.
Pág. 158-160.
Ed.

CONTENIDO

	Pág.
I INTRODUCCION	1
II GENERALIDADES	3
III PROPIEDADES FISICOQUIMICAS EXPERIMENTALES	9
IV DETERMINACION DE LA PUREZA	15
V RESULTADOS EXPERIMENTALES	34
VI COMENTARIOS Y CONCLUSIONES	40
VII BIBLIOGRAFIA	42

Esta Tesis se imprimió en Abril de 1978
empleando el sistema de reproducción Foto-Offset,
en los Talleres de Impresos Offsali-G, S. A., Av.
Colonia del Valle No. 535 (Esq. Adolfo Prieto),
Tels. 523-03-33 y 523-21-05 México 12, D. F.