



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

IMPLEMENTACIÓN DE TRES PROTOCOLOS EXPERIMENTALES PARA LA ENSEÑANZA DE LA
ASIGNATURA:

ANÁLISIS DE MEDICAMENTOS

(CLAVE: 1705)

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A

CLAUDIA LIZBETH LANCIEGO GIRÓN



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX AÑO: 2020



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: JUAN MANUEL RODRIGUEZ

VOCAL: Profesor: BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ

SECRETARIO: Profesor: NATIVIDAD GARCIA ESCAMILLA

1er. SUPLENTE: Profesor: IRMA JOSE NUÑEZ

2° SUPLENTE: Profesor: ABEL BALTAZAR HERNANDEZ CALVO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO 113, EDIFICIO E Y LABORATORIO DE CONTROL ANALÍTICO,
EDIFICIO B, FACULTAD DE QUÍMICA**

ASESOR DEL TEMA:

SUPERVISOR DEL TEMA:

Dra. Blanca Estela Rivero Cruz

QFB. Georgina Margarita Maya Ruiz

SUSTENTANTE:

Claudia Lizbeth Lanciego Girón

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	I
1.Justificación y Objetivos	1
2 Antecedentes.....	4
2.1 Benzonatato	4
2.1.1 Mecanismo de acción.....	4
2.1.2 Farmacocinética	5
2.1.3 Efectos Adversos.....	5
2.2 Carbonato de Calcio (CaCO ₃)	6
2.2.1 Mecanismo de Acción	6
2.2.3 Farmacocinética	7
2.2.4 Farmacodinamia.....	7
2.2.5 Efectos adversos	7
2.3 Cloranfenicol	8
2.3.1 Mecanismo de Acción	8
2.3.2 Farmacocinética	9
2.3.3 Espectro Antibacteriano.....	9
3 METODOLOGÍAS, EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y APARATOS.....	10
3.1 Descripción	10
3.2 Solubilidad.....	10
3.2.1 Benzonatato.....	10
3.2.2 Carbonato de calcio	10
3.2.3 Cloranfenicol.....	10
3.3 Ensayos de Identidad	11
3.3.1 Espectroscopia Infrarroja	11
3.3.2 Espectrofotometría UV.....	11
3.4 Identificación de iones, grupos funcionales y radicales.....	11
3.5 Cromatografía de líquidos de alta eficiencia	12
3.6 Otras determinaciones	13
3.6.1 Índice de Refracción	13
3.6.2 Temperatura de fusión.....	13
3.6.3 pH.....	13
3.6.4 Cromatografía en capa delgada. Sustancias relacionadas.....	13
3.7 Pruebas límite.....	13

3.7.1 Prueba límite de cloruros	14
3.7.2 Prueba límite de sulfatos	15
3.7.3 Prueba límite de hierro	16
3.7.4 Prueba límite de metales pesados	17
3.8 Determinación del contenido de agua por el método de Karl Fischer	17
3.9 Valoración	18
4 Resultados y Discusión.	19
4.1 Descripción	19
4.2 Solubilidad.....	20
4.3 Ensayos de identidad	21
4.3.1 Benzonatato.....	21
4.3.2 Carbonato de Calcio	23
4.3.3 Cloranfenicol.....	24
4.4 Otras pruebas.....	26
4.4.1. Índice de Refracción (benzonatato).....	26
4.4.2. Temperatura de fusión (cloranfenicol).....	27
4.4.3. pH (cloranfenicol).....	28
4.4.4 Sustancias Relacionadas (cloranfenicol).....	28
4.5 Pruebas Límite	30
4.5.1 Límite de Cloruros.....	30
4.5.2 Límite de sulfatos.....	31
4.5.3 Límite de hierro	32
4.5.4 Metales pesados.....	33
4.6 Determinación de agua por el método de Karl Fischer	33
4.7 Valoración	35
4.7.1 Benzonatato.....	36
4.7.2 Carbonato de Calcio	37
4.7.3 Cloranfenicol.....	38
5 Conclusiones.....	41
6 Bibliografía	42

Anexo I Protocolo de Análisis de Benzonatato

Anexo II Protocolo de Análisis de Carbonato de calcio

Anexo III Protocolo de Análisis de Cloranfenicol

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por recibirme dentro de sus aulas y con ello adquirir una educación de excelencia.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPIRITU”

A la Facultad de Química por permitirme realizar y concluir mis estudios de licenciatura y permitirme conocer a la mejor familia.

Al proyecto PAPIME PE209018 (PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS PARA LA INNOVACIÓN Y MEJORAMIENTO DE LA ENSEÑANZA PAPIME 2018) por el financiamiento otorgado para el desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Blanca Rivero Cruz por el apoyo en la realización del presente trabajo, pero sobre todo por brindarme su confianza, amistad, por los consejos académicos, laborales y personales día a día durante mi estancia en el laboratorio 113, agradezco el que haya estado presente en mi formación profesional.

A la QFB Georgina Maya Ruíz por toda la paciencia empleada y por el apoyo para la realización del proyecto, pero infinitamente por sus consejos académicos, profesionales y personales, sobre todo por la confianza brindada ya que aún sin conocerme me brindó lo necesario para finalizar este proyecto.

Al Dr. Juan Manuel Rodríguez y Natividad García Escamilla por el tiempo empleado para la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Fausto Rivero Cruz por su apoyo, consejos y aportaciones durante mi estancia en el laboratorio.

GRACIAS

GRACIAS UNAM

GRACIAS FACULTAD DE QUÍMICA

GRACIAS PROFESORES

GRACIAS FAMILIA

GRACIAS COMPAÑEROS Y AMIGOS

GRACIAS INFINITAS!!!!!!

LA VIDA ES COMO ANDAR EN BICICLETA, PARA MANTENER EL
EQUILIBRIO DEBE MANTENERSE EN MOVIMIENTO.

ALBERT EINSTEIN

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
A	Absorbancia
BV	Baño de Vapor
BPL	Buenas Prácticas de Laboratorio
BPD	Buenas Prácticas de Documentación
°C	Grados Celsius
CV	Coefficiente de Variación
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
F	Factor del Reactivo de Karl Fischer
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
G	Gramo
H	Horas
η	Índice de Refracción
IR	Infrarrojo
LGS	Ley General de Salud
L	Litro
MM	Masa Molecular
Min	Minutos
μg	microgramo
μL	Microlitro
mEq	Miliequivalente

Mg	Miligramo
mL	mililitro
M	Molaridad
nm	Nanómetros
N	Normalidad
ppm	Partes por millón
m/v	Porcentaje masa-volumen
m/m	Porcentaje masa-masa
\bar{x}	Promedio
QFB	Química Farmacéutico Biológica
RA	Reactivo Analítico
R _F	Relación de Frentes
SV	Solución Valorada
SI	Solución Indicadora
SR	Solución Reactivo
SRef	Sustancia de referencia de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
USP	United States Pharmacopeia



1. Justificación y Objetivos

La asignatura análisis de medicamentos está orientada a comprobar que las especialidades farmacéuticas que se comercializan en México cumplen con los requisitos mínimos de calidad. Conforme al Artículo 8, del Reglamento de Insumos para la Salud, los aditivos, fármacos y medicamentos deben evaluarse de acuerdo con los procedimientos y especificaciones indicados en la edición vigente de la FEUM y sus suplementos. Es una materia de carácter obligatorio en el plan de estudios vigente de la carrera Química Farmacéutico Biológica, de la Facultad de Química, UNAM y pretende que el alumno integre y aplique los conocimientos analíticos, químicos y microbiológicos en la evaluación de la calidad de los medicamentos e insumos para la salud. Otro de los objetivos que se persigue es que el alumno emplee de forma correcta, las referencias básicas para llevar a cabo el análisis de los medicamentos (compendios farmacopeicos). Al finalizar el curso el estudiante reconocerá, además, la necesidad de generar resultados confiables para la correcta toma de decisiones.²⁴

En este marco de referencia el presente trabajo pretende contribuir con la mejora de la calidad del proceso enseñanza-aprendizaje del curso práctico de la asignatura análisis de medicamentos mediante la generación de nuevos protocolos experimentales.

Actualmente, el 80% de las prácticas se centra en el análisis de especialidades farmacéuticas. Las prácticas incorporadas son de gran valor didáctico debido a que ilustran las pruebas, los procedimientos analíticos y los criterios de aceptación farmacopeicos para cuatro formas farmacéuticas. Los protocolos también ilustran la aplicación de los métodos descritos en diferentes compendios farmacopeicos para analizar diferentes dosis y marcas de medicamentos. Con base en estas consideraciones y con la finalidad de complementar la Unidad IV del curso (Análisis de Insumos para la Salud y Materiales), el presente trabajo, pretende introducir nuevos protocolos para analizar tres fármacos que permitan complementar la



formación y el aprendizaje de los estudiantes. Es importante destacar que el análisis de los fármacos seleccionados permitirá ilustrar varias determinaciones que no se realizan en las prácticas actuales. Se pretende además que el alumno identifique los puntos críticos de cada procedimiento; aprenda el fundamento de cada una de las técnicas descritas y genere resultados confiables para la toma de decisiones éticas y de carácter legal.

Asimismo, los nuevos protocolos proporcionarán a los profesores alternativas didácticas que conlleven a los mismos objetivos de aprendizaje. Finalmente, para el diseño de los protocolos se consideró lo descrito, en el volumen III de la edición vigente de la FEUM, referente a las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y de Documentación (BPD).¹⁶

Con base en estas consideraciones el objetivo primordial del presente trabajo reside en introducir nuevos protocolos experimentales que permitan aplicar e interpretar de manera correcta los métodos generales de mayor aplicación para el análisis de fármacos.

La introducción de prácticas novedosas permitirá complementar la enseñanza experimental de la asignatura análisis de medicamentos y facilitará el proceso de aprendizaje de la materia. El desarrollo de los protocolos propuestos permitirá adecuar el programa de la asignatura con los requisitos actuales establecidos en la legislación farmacéutica para la autorización de medicamentos.

Para el cumplimiento del objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:



- 1.- Aplicar los métodos descritos en la United States Pharmacopoeia (USP), Edición 39, para evaluar la calidad del Carbonato de calcio. Para ello, se realizarán las siguientes determinaciones: solubilidad, identidad, cloruros, sulfatos, metales pesados, hierro y valoración.
- 2.- Aplicar los métodos generales descritos en la FEUM, Duodécima Edición, para evaluar la calidad del benzonatato. Para ello, se realizarán las siguientes determinaciones: solubilidad, identidad, agua, índice de refracción, cloruros, sulfatos y valoración.
- 3.- Aplicar los métodos generales descritos en la FEUM, Duodécima Edición, para evaluar la calidad del cloranfenicol. Para ello, se realizarán las siguientes determinaciones: solubilidad, identidad, cloruros y valoración



2 Antecedentes

2.1 Benzonatato

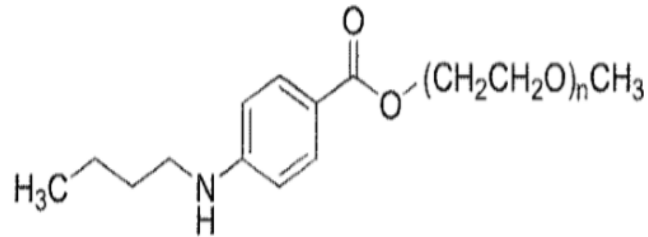


Figura 2.1. Estructura del Benzonatato

Nombre: Benzonatato (FEUM) Benzonatate (USP)

Nombre IUPAC: 4-(Butilamino) benzoato de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, nonaoxaoctocosan-1-ilo.

Fórmula Molecular: C₃₀H₅₃NO₁₁

Masa Molecular: 603.75 g/mol

El benzonatato es un antitusivo oral no narcótico que deriva de la cadena larga del poliglicol; estructuralmente está relacionado con la procaína y produce alivio sintomático de la tos causada por la irritación de los bronquios y la garganta que acompaña a los resfriados o a la inhalación de irritantes. Tiene propiedades anestésicas locales y actúa sobre los receptores de estiramiento de las fibras aferentes vagales que se localizan en las vías respiratorias, pulmones y pleura. También, suprime el reflejo tusígeno por un mecanismo central a nivel de la médula.^{2, 12}

2.1.1 Mecanismo de acción

Actúa periféricamente, anestesiando los receptores de estiramiento de las fibras aferentes vagales en los alvéolos de los pulmones, los bronquios y la pleura. Dado que estos receptores son responsables de mediar el reflejo de la tos, la anestesia de estos receptores provoca la inhibición de la producción de tos; también, suprime la transmisión del reflejo de la tos a nivel de la médula, donde el impulso aferente se transmite a los nervios motores. Cuando el benzonatato se aplica localmente se



une a la porción intracelular de los canales de sodio dependientes de voltaje disminuyendo la tasa de despolarización de la membrana y aumentando el umbral de la excitabilidad eléctrica.²

2.1.2 Farmacocinética

El benzonatato no tiene inhibición sobre los centros respiratorios a las dosis indicadas, se considera que su potencia antitusígena está relacionada con la codeína; pero es menos eficaz que ésta.

Este fármaco es indicado terapéuticamente en dosis de 100 mg cada 8 h, su efecto de latencia es de 20 min y dura hasta 8 h. Se absorbe en el tubo digestivo y sus metabolitos se eliminan en la orina.²¹

2.1.3 Efectos adversos

Los signos y síntomas de sobredosis de benzonatato se presentan en 15-20 minutos. Si se disuelve en la boca, la anestesia orofaríngea se desarrollará rápidamente causando asfixia y compromiso de las vías respiratorias. La estimulación del SNC puede causar inquietud y temblores que pueden derivar en convulsiones clónicas seguidas de una profunda depresión del SNC. Las convulsiones, el coma, el edema cerebral y el paro cardíaco que conducen a la muerte se han documentado una hora posterior a la ingestión.¹²



2.2 Carbonato de Calcio (CaCO₃)

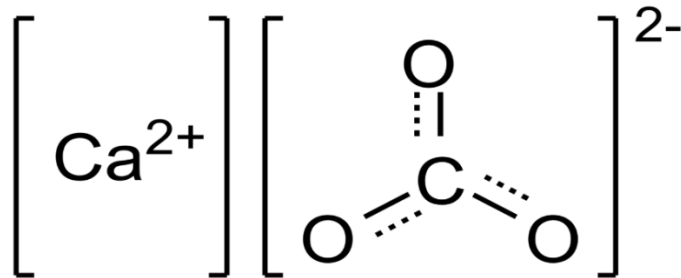


Figura 2.2. Estructura del Carbonato de calcio

Nombre: Carbonato de Calcio

Nombre IUPAC: Trioxocarbonato (IV) de calcio

Fórmula Molecular: CaCO₃

Masa Molecular: 100.0869 g/mol

El carbonato de calcio se usa terapéuticamente como antiácido; es potente y de acción rápida para tratar la hiperacidez gástrica. También, se utiliza para el alivio temporal de la indigestión y la acidez estomacal y para prevenir y tratar la osteoporosis.

El carbonato de calcio es un suplemento alimenticio que se utiliza cuando la cantidad de calcio que se obtiene con la alimentación no es suficiente. Puede adquirirse con o sin receta médica. El calcio es necesario en el organismo para mantener sanos los huesos, los músculos, el sistema nervioso y el corazón.²²

2.2.1 Mecanismo de acción

El carbonato de calcio es una sal inorgánica básica que actúa neutralizando el ácido clorhídrico en las secreciones gástricas. Los efectos citoprotectores pueden ocurrir a través de aumentos en el ion bicarbonato (HCO³⁻) y las prostaglandinas. La neutralización del ácido clorhídrico da como resultado la formación de cloruro de calcio, dióxido de carbono y agua. Aproximadamente el 90% del cloruro de calcio se convierte en sales de calcio insolubles (carbonato de calcio y fosfato de calcio).¹⁵



2.2.2 Farmacocinética

Aproximadamente entre 1/5 a 1/3 de la dosis oral de calcio administrada es absorbida en el intestino delgado, dependiendo de la presencia de metabolitos de la vitamina D, del pH del lumen y de ciertos factores dietéticos como la unión del calcio a la fibra o a los fitatos. La absorción del calcio es mayor en estados de deficiencias o cuando la dieta del paciente es pobre en calcio. En aquellos pacientes con aclorhidria o hipoclorhidria la absorción disminuye especialmente. Su unión a las proteínas plasmáticas es moderada (45% aproximadamente). Se elimina principalmente por heces (80%) como calcio no absorbido.³¹

2.2.3 Farmacodinamia.

La enfermedad gástrica-péptica se produce como resultado de un desequilibrio entre los factores protectores, como la secreción de moco, bicarbonato y prostaglandina, y factores agresivos como el ácido clorhídrico, la pepsina y el *Helicobacter pylori*. Los antiácidos actúan restaurando el equilibrio ácido-base, atenuando la actividad de la pepsina y aumentando la secreción de bicarbonato y prostaglandina. La capacidad de neutralización de ácido del carbonato de calcio es de 58 mEq/15 mL. Cuando se usa como un suplemento nutricional, el carbonato de calcio actúa aumentando directamente las reservas de calcio en el cuerpo.²⁶

2.2.4 Efectos adversos

Contraindicado en hipercalcemia (primaria o secundaria) e hipercalciuria, en hiperparatiroidismo, sobredosis de vitamina D, tumores descalcificantes tales como plasmacitoma y en metástasis esqueléticas, insuficiencia renal severa, sarcoidosis y en osteoporosis debido a inmovilización.³¹



2.3 Cloranfenicol

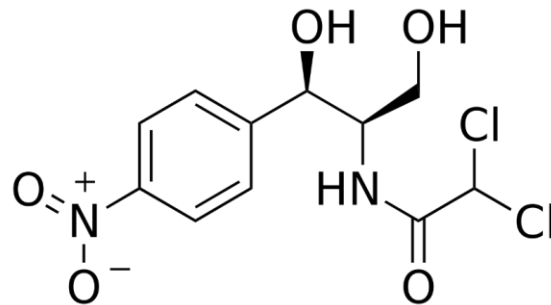


Figura 2.3. Estructura del Cloranfenicol

Nombre: Cloranfenicol

Nombre IUPAC: (2,2-Dicloro-N- [1,3-dihidroxi-1-(4-nitrofenil) propan-2-il] acetamina

Fórmula Molecular: C₁₁H₁₂N₂Cl₂O₅

Peso Molecular: 323.131 g/mol

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro aislado de la bacteria *Streptomyces venezuelae*, actualmente se sintetiza. El cloranfenicol es eficaz contra una amplia variedad de microorganismos, pero debido a sus efectos secundarios graves (daño a la médula ósea, incluida la anemia aplásica), en humanos, se reserva para el tratamiento de infecciones graves y potencialmente mortales (fiebre tifoidea). El cloranfenicol detiene el crecimiento bacteriano al uniéndose al ribosoma bacteriano (bloqueando la peptidil transferasa) e inhibiendo la síntesis de proteínas.²²

2.3.1 Mecanismo de Acción

El cloranfenicol es soluble en lípidos, lo que le permite difundirse a través de la membrana celular bacteriana. Enseguida se une de manera reversible a la proteína L16 de la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos, donde evita la transferencia de aminoácidos a cadenas peptídicas en crecimiento, inhibiendo así, la formación de enlaces peptídicos y la posterior síntesis de proteínas.¹⁴



2.3.2 Farmacocinética

Tanto el palmitato como el succinato del cloranfenicol se hidrolizan a cloranfenicol, en el organismo para ejercer su acción antibacteriana. Se distribuye en la mayor parte de los tejidos y líquidos del cuerpo, incluyendo el líquido cefalorraquídeo, hígado y riñones. Cerca del 60% del fármaco se une a proteínas plasmáticas. El cloranfenicol se metaboliza principalmente por la glucuronil transferasa hepática en metabolitos inactivos. Finalmente se excreta cerca del 10-12% de la dosis por los riñones como fármaco inalterado. El resto se elimina en forma de metabolitos sin actividad farmacológica.

2.3.3 Espectro antibacteriano

Es activo frente a una gran variedad de gérmenes, aunque muchos de ellos han desarrollado resistencia. Destaca la gran sensibilidad del cloranfenicol a: *Haemophilus influenzae*, *Salmonella*, y la mayoría de los anaerobios. También, son sensibles especies de los géneros *Micoplasmas*, *Rickettsias* y *Chlamydias*.^{18, 19}



3 METODOLOGÍAS, EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y APARATOS.

La siguiente metodología se encuentra descrita en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 12ª Edición ^{1,3,8}.

3.1 Descripción

Colocar en un vidrio de reloj o un tubo de ensayo una pequeña cantidad de muestra. Registrar las características físicas observadas.

3.2 Solubilidad

3.2.1 Benzonatato

Pesar, en dos tubos de ensayo, 100 mg de benzonatato y disolverlos con 1 mL de alcohol o 1 mL de cloroformo. Agitar vigorosamente durante 30 segundos, en intervalos de 5 minutos, durante 30 minutos.

Para determinar la miscibilidad en agua se pesó una masa de 500 mg y se adicionaron 0.5 mL de agua.

3.2.2 Carbonato de calcio

Pesar, en tres tubos de ensayo, 100 mg de carbonato de calcio y disolverlos con 3 mL de ácido acético 1 N, 3 mL de ácido clorhídrico 3 N o 3 mL de ácido nítrico 2 N. Pesar, en tres matraces Erlenmeyer 10 mg de carbonato de calcio y disolverlos con 100 mL de agua, 100 mL de alcohol o 100 mL de éter dietílico.

Agitar vigorosamente todas las muestras durante 30 segundos, en intervalos de 5 minutos, durante 30 minutos.

3.2.3 Cloranfenicol

En dos tubos de ensayo, pesar por separado, 100 mg de cloranfenicol y disolverlos con 1 mL de alcohol, 1 mL de metanol o 1 mL de acetona.



En un matraz Erlenmeyer pesar 10 mg de cloranfenicol y disolverlos con 100 mL de agua.

Agitar vigorosamente todas las muestras durante 30 segundos, en intervalos de 5 minutos, durante 30 minutos.

3.3 Ensayos de Identidad

3.3.1 Espectroscopia Infrarroja

El espectro en el infrarrojo del benzonatato y del cloranfenicol se registró en un espectrómetro Perkin Elmer modelo Platinum con accesorio de ATR. Para ello, una pequeña cantidad de muestra y de sustancia de referencia se colocó en el portamuestras del ATR y se registró el espectro en el IR.

3.3.2 Espectrofotometría UV

Transferir 15 mg de muestra y de la sustancia de referencia de benzonatato a un matraz volumétrico de 100 mL; agregar agua hasta disolución total; diluir a volumen con agua. Diluir 5 mL de la solución anterior, con agua, hasta 50 mL. Los espectros en el UV se registraron en un espectrofotómetro Thermo Scientific, utilizando agua como blanco de ajuste.

3.4 Identificación de iones, grupos funcionales y radicales

Preparación de la muestra: pesar 1 g de carbonato de calcio y transferirlo a un matraz Erlenmeyer de 50 mL; agregar 20 mL de ácido acético glacial (observar la producción de efervescencia). Colocar la solución a ebullición y enfriar.

La solución así obtenida se trató con dos gotas de SI de rojo de metilo y se neutralizó con solución de hidróxido de amonio 6 N. Posteriormente, se agregó, gota a gota, solución de ácido clorhídrico 3 N hasta que la solución fue ácida al indicador. Enseguida, se adicionó SR de oxalato de amonio. El precipitado blanco de oxalato



de calcio se dividió en dos tubos de ensayo; en uno de los tubos se agregó solución de ácido acético 6 N (el precipitado es insoluble) y en el otro ácido clorhídrico (el precipitado es soluble).

3.5 Cromatografía de líquidos de alta eficiencia

El análisis por cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) se realizó en un cromatógrafo de líquidos marca SHIMADZU (Analytical and Measuring Instruments Division, Kyoto, Japón) equipado con un detector UV-visible dual SPD-10A; un inyector automático SIL-10AD (VP); una bomba LC-10AT (VP); un horno para columna CTO-10A; un desgasificador DGU14A y un sistema de control SCL-10A (VP) SHIMADZU acoplado a un equipo de cómputo. El control del equipo, el procesamiento y la manipulación de los datos se realizó utilizando el software LabSolution/LCsolution.

El análisis se realizó en una columna Purospher STAR RP-18 de 4.6 mm de diámetro interno por 15 cm de longitud y con un tamaño de partícula de 5 μm . El volumen de inyección utilizado fue de 10 μL . La elución se realizó con un sistema isocrático que consistió en una mezcla constituida por agua:metanol:ácido acético glacial en una proporción 55:45:0.1. El flujo utilizado fue de 1.0 mL/min y la temperatura empleada para el análisis fue de 25 °C. La longitud de onda empleada para la detección del fármaco fue de 280 nm.

Preparación de la solución muestra y de la solución de referencia: transferir 200 mg de muestra o de sustancia de referencia de cloranfenicol a un matraz volumétrico de 100 mL; agregar agua:metanol:ácido acético glacial (55:45:0.1) hasta disolución total; diluir a volumen con la misma mezcla de disolventes (fase móvil). Diluir 4.0 mL de la solución anterior, con fase móvil, hasta 100 mL. Filtrar a través de un filtro de 45 μm .



3.6 Otras determinaciones

3.6.1 Índice de Refracción

El índice de refracción del benzonatato se registró en un refractómetro de Abbé. Previa calibración y ajuste de la temperatura del aparato se depositó una gota sobre la superficie del prisma de medición evitando la formación de burbujas antes de cerrar el prisma. Realizar tres lecturas por muestra.¹¹

3.6.2 Temperatura de fusión

La temperatura de fusión del cloranfenicol se registró en un aparato Fischer-Johns. Para ello, una pequeña cantidad de muestra se colocó en un cubreobjetos sobre la placa metálica del aparato. Una vez que la temperatura fue 10 °C menor al punto de fusión esperado se reguló la velocidad de calentamiento a 1 °C/min.

3.6.3 pH

Preparación de la muestra: transferir 500 mg de la muestra de cloranfenicol a un matraz volumétrico de 20 mL; agregar agua hasta disolución total; diluir a volumen con agua. Previo ajuste del potenciómetro con las soluciones buffer pH 10.0, 7.0 y 4.0 se midió el pH de la solución. Se trabajaron 3 réplicas para esta determinación.

3.6.4 Cromatografía en capa delgada. Sustancias relacionadas

Preparación de referencia 1: Transferir 100 mg de la sustancia de referencia de cloranfenicol a un matraz volumétrico de 10 mL; disolver y llevar al aforo con metanol. Esta solución contiene 10 mg/mL.

Preparación de referencia 2: Diluir 1 mL de la preparación de referencia 1, con metanol, hasta 100 mL. Esta solución contiene 100 µg/mL.



Preparación de referencia 3: Diluir 10 mL de la solución de referencia 2, con metanol, hasta 20 mL. Esta solución contiene 50 µg/mL.

Preparación de la muestra: Transferir 100 mg de la muestra a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y llevar al aforo con metanol.

Para el análisis cromatográfico de las sustancias relacionadas se utilizaron placas de aluminio recubiertas de gel de sílice (sílica gel 60 G₂₅₄ Merck). El sistema de elución empleado fue cloroformo: metanol: ácido acético glacial en una proporción 79:14:7. Una vez preparadas las soluciones de referencia y la muestra se aplicaron, en carriles separados 20 µL de la preparación de la muestra, 20 µL de la preparación de referencia 2 y 20 µL de la preparación de referencia 3. Se desarrolló el cromatograma hasta que la fase móvil recorrió 3/4 partes a partir del punto de aplicación; enseguida se retiró la cromatoplaqa y se marcó el frente de la fase móvil. La placa se secó por exposición al aire y se examinó bajo la lámpara de luz UV a 254 nm.

3.7 Pruebas límite

3.7.1 Prueba límite de cloruros

Preparación de muestras y de solución de referencia

Benzonatato: para determinar los cloruros en la muestra se preparó una solución 1:10, con agua. 20 mL de esta solución, 20 mL de agua y 10 mL de ácido nítrico se mezclaron, con agitación constante, durante 60 min. Al término del proceso de agitación, la solución resultante se mantuvo en reposo durante 60 minutos. Posteriormente, se filtró a través de un filtro, previamente lavado con agua, para eliminar los cloruros. La solución filtrada se transfirió a un tubo de Nessler. En un segundo tubo de Nessler se preparó la referencia con 0.1 mL de solución volumétrica de ácido clorhídrico 0.020 N.

Carbonato de calcio: 5.0 g de la muestra se disolvieron en 80 mL de solución de ácido acético diluido. Cuando la efervescencia terminó la solución se calentó a



ebullición durante 2 minutos. La solución obtenida se enfrió y se diluyó a 100 mL con solución de ácido acético diluido. Enseguida, se filtró a través de vidrio sinterizado de poro fino. 3 mL de esta solución se transfirieron a un tubo de Nessler y se diluyeron a 15 mL con agua. En un segundo tubo de Nessler (referencia) se adicionó 0.1 mL de solución volumétrica de ácido clorhídrico 0.020 N y 15 mL de agua.

Cloranfenicol: 1.0 g de la muestra se disolvió con 20 mL de agua y 10 mL de ácido nítrico mediante agitación constante durante 5 minutos. Enseguida, se filtró a través de papel filtro libre de cloruros ⁽¹⁾. 15 mL de esta solución se transfirieron a un tubo de Nessler para realizar la determinación. En un segundo tubo de Nessler (referencia) se adicionó 0.15 mL de solución volumétrica de ácido clorhídrico 0.020 N y 15 mL de agua.

⁽¹⁾Lavar el papel filtro con porciones de 5 mL de agua hasta que 5 mL del filtrado no muestren opalescencia cuando se adicionan 0.1 mL de ácido nítrico y 0.1 mL de solución de nitrato de plata (42.5 g de nitrato de plata por litro de agua).

Procedimiento general: a cada tubo de Nessler, conteniendo la solución muestra y la solución estándar (previa neutralización), se adicionaron 1 mL de ácido nítrico y 1 mL de solución reactivo de nitrato de plata. El contenido de los tubos se mezcló para homogeneizar la solución y, se dejaron en reposo durante 5 minutos protegidos de la luz. Al término de este periodo se observó la turbidez producida.

3.7.2 Prueba límite de sulfatos

Preparación de muestras y de solución de referencia

Benzonatato: para determinar los sulfatos en la muestra se preparó una solución 1:20, con agua. 5 mL de esta solución, 5 mL de agua y 1 mL de ácido clorhídrico 3 N se mezclaron, con agitación constante, durante 60 min. Al término del proceso de agitación, la solución resultante se mantuvo en reposo durante 60 minutos. Posteriormente, se filtró a través de un filtro, previamente lavado con agua, para eliminar los sulfatos. La solución filtrada se transfirió a un tubo de Nessler. En un



segundo tubo de Nessler (referencia) se adicionó 0.1 mL de solución volumétrica de ácido sulfúrico 0.020 N y 11 mL de agua.

Carbonato de calcio: para esta determinación 1.5 mL de la muestra obtenida para determinar cloruros (inciso 3.4.1) se transfirió a un Tubo de Nessler y se diluyó a 15 mL con agua. En un segundo tubo de Nessler (referencia) se adicionó 0.2 mL de solución volumétrica de ácido sulfúrico 0.020 N y 15 mL de agua.

Procedimiento general: a cada tubo de Nessler, conteniendo la solución muestra y la solución estándar, y se adicionaron 1 mL de ácido clorhídrico 3 N y 3 mL de solución reactivo de cloruro de bario. El contenido de los tubos se mezcló para homogeneizar la solución y, se dejaron en reposo durante 5 minutos. Al término de este periodo se observó la turbidez producida.

3.7.3 Prueba límite de hierro

Preparación de la muestra: En un vaso de precipitados de 50 mL se colocaron 40 mg de carbonato de calcio y se disolvieron con 5 mL de ácido clorhídrico 2 N. La solución resultante se diluyó a 10 mL con agua.

Preparación de la solución de referencia: En un vaso de precipitados de 50 mL se transfirieron 4.0 mL de solución estándar de hierro y se diluyó con agua hasta 10 mL.

Procedimiento: a cada vaso de precipitados conteniendo la *solución muestra* y la *solución estándar* se adicionaron 2 mL de solución de ácido cítrico (1 en 5) y 2 gotas de ácido tioglicólico. Enseguida, se ajustó el pH a 9.5 ± 0.1 con solución reactivo de amoníaco y se diluyó a 20 mL con agua. Después de 5 minutos de reposo se diluyó a 50 mL con agua. Finalmente, se midieron las absorbancias de ambas soluciones a 530 nm utilizando agua como disolvente.



3.7.4 Prueba límite de metales pesados

Preparación de la muestra: En un vaso de precipitados de 50 mL se mezclaron 1.0 g de carbonato de calcio con 5 mL de agua. A continuación, se adicionaron lentamente 8 mL de ácido clorhídrico 3 N. La solución resultante se evaporó en baño de vapor a sequedad. El residuo se disolvió en 20 mL de agua; la solución obtenida se filtró y se diluyó, a 25 mL con agua. Finalmente, la solución se transfirió a un tubo de Nessler.

Preparación de la solución de referencia: En un tubo de Nessler se adicionaron 2.0 mL de solución estándar de plomo y 23 mL de agua.

Procedimiento: a cada tubo de Nessler conteniendo la solución muestra y la solución estándar se adicionaron 2 mL de solución amortiguadora de acetatos pH 3.5 y 1.2 mL de solución reactivo de tioacetamida glicerina base, mezclar para homogenizar. Antes de observar la coloración resultante, ambos tubos, se mantuvieron en reposo durante 5 minutos.

3.8 Determinación del contenido de agua por el método de Karl Fischer

La determinación de agua en benzonatato se realizó en un acuómetro marca Metrohm 870 KF Titrino Plus

Estandarización del reactivo. El factor del reactivo de Karl-Fischer se determinó, el día de su uso, de acuerdo con el siguiente procedimiento.

40 mL de metanol seco se transfirieron al vaso de titulación; a continuación, se adicionó reactivo de Karl Fischer a través de la bureta automática para neutralizar cualquier cantidad de agua que pudiera estar presente en todo el sistema.

Enseguida, se agregaron entre 150 mg a 350 mg de tartrato sódico dihidratado, exactamente pesado por diferencia, y se titularon hasta el punto final. Se realizaron tres réplicas para calcular el factor equivalente de agua en miligramos de agua por mililitro de reactivo.



Determinación de agua en la muestra. 3.5 g de benzonatato, exactamente pesados por diferencia, se adicionaron al vaso de titulación y se titularon con el reactivo de Karl-Fischer hasta el punto final. Para calcular el contenido de agua en la muestra, se realizaron tres réplicas.

3.9 Valoración

Benzonatato: 5 g \pm 10% de la muestra se transfirieron a un matraz bola con junta 24/40 para reflujo. A continuación, se adicionaron 25.0 mL de solución volumétrica de hidróxido de sodio 0.5 N y se calentó a reflujo durante 1 h. Al término de este periodo la solución se enfrió y agregaron 25.0 mL de agua y diez gotas de solución indicadora de azul de bromotimol. El exceso de álcali se tituló con solución volumétrica de ácido clorhídrico 0.5 N. Concomitantemente, se realizó un blanco de reactivos. Se realizaron tres réplicas de trabajo para esta determinación.

Carbonato de calcio: en un vaso de precipitados de 250 mL se transfirieron 200 mg \pm 10% de la muestra (seca a 200 °C durante 4 h) y se humedecieron por completo con unos mililitros de agua. Enseguida, se adicionó, gota a gota, solución de ácido clorhídrico 3 N hasta disolución total. Una vez disuelta la muestra se agregaron 100 mL de agua, 15 mL de solución reactivo de hidróxido de sodio 1 N y 300 mg de azul de hidroxinaftol. La solución resultante se tituló con edetato disódico 0.05 M hasta vire del indicador a color azul. Se realizaron tres réplicas de trabajo para esta determinación.

Cloranfenicol: para la valoración de este fármaco se utilizó la metodología descrita en el inciso 5.3.3. La verificación del sistema se realizó mediante la inyección de seis réplicas de la misma solución estándar.

Criterios de aceptación. La eficacia de la columna no es menor de 1 800 platos teóricos; el factor de coleo no es mayor de 2.0 y el coeficiente de variación no es mayor del 1.0 %.



4 Resultados y Discusión.

En el presente trabajo de tesis se evaluaron los parámetros de calidad de tres fármacos de acuerdo con la metodología descrita en la Duodécima Edición de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.^{1,3,8}

4.1 Descripción

La descripción de una sustancia es útil para facilitar su identificación macroscópica. Las características físicas detectables incluyen propiedades organolépticas (color, olor, textura y apariencia física) en aquellos casos en que son específicas, inocuas y proporcionan información evidente para la rápida identificación de la sustancia.

Los resultados obtenidos para los tres fármacos se resumen en la tabla 4.1.

Tabla 4.1 Descripción de las muestras

FÁRMACO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Benzonatato	Líquido viscoso de color amarillo claro	Líquido viscoso de coloración amarilla tenue.
Carbonato de calcio	Polvo fino, microcristalino blanco	Polvo fino de color blanco.
Cloranfenicol	Polvo cristalino blanco, blanco grisáceo o blanco amarillento, o cristales finos, agujas a placas alargadas	Polvo cristalino blanco

Con base en la información resumida en la Tabla 4.1 los tres fármacos cumplen con la descripción descrita en la FEUM 12^a edición.



4.2 Solubilidad

La solubilidad es el grado de disolución de un polvo en un disolvente, a 25°C, durante 30 minutos, con agitación vigorosa durante 30 s en intervalos de 5 min. Esta propiedad se evaluó de acuerdo con los términos señalados en la FEUM 9ª edición (Tabla 4.2) ^{1,3,8}.

Tabla 4.2 Términos de solubilidad (FEUM Novena Edición, 2011).

	FEUM, Novena Edición	FEUM, Undécima Edición	FEUM, Duodécima Edición
TÉRMINOS	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto
Muy soluble	Menos de una parte	Menos de una parte	Menos de una parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes
Soluble	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes
Ligeramente soluble	De 101 a 1 000 partes	De 31 a 100 partes	De 31 a 100 partes
Poco soluble	De 31 a 100 partes	De 101 a 1 000 partes	De 101 a 1 000 partes
Muy poco soluble	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes
Casi insoluble	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes

Los resultados de solubilidad obtenidos para los tres fármacos se resumen en la Tabla. 4.3.

Tabla 4.3 Resultados de solubilidad

Benzonatato				
Término de solubilidad	Masa	Disolvente	mL (utilizados)	Dictamen
Fácilmente soluble	100.4 mg	Alcohol	1 mL	CUMPLE
Fácilmente soluble	100.3 mg	Cloroformo	1 mL	CUMPLE
Miscible	500.3 mg	Agua	0.5 mL	CUMPLE
Carbonato de calcio				
Término de solubilidad	Masa de	Disolvente	mL (utilizados)	Dictamen
Soluble	102.2 mg	C ₂ H ₄ O ₂ 1 N	3 mL	CUMPLE



Soluble	101.3 mg	HCl 3 N	3 mL	CUMPLE
Soluble	101.3 mg	HNO ₃ 2 N	3 mL	CUMPLE
Casi insoluble	10.1 mg	Alcohol	100 mL	CUMPLE
Casi insoluble	10.07 mg	Éter dietílico	100 mL	CUMPLE
Casi insoluble	10.2 mg	Agua	100 mL	CUMPLE
Cloranfenicol				
Término de solubilidad	Masa	Disolvente	mL (utilizados)	Dictamen
Fácilmente soluble	101.2 mg	Alcohol	1 mL	CUMPLE
Fácilmente soluble	100.3 mg	Metanol	1 mL	CUMPLE
Fácilmente soluble	100.3 mg	Acetona	1 mL	CUMPLE
Poco soluble	10.4 mg	Agua	100 mL	CUMPLE

Con base en los resultados descritos en la Tabla 4.3 se concluye que los tres fármacos cumplen con la especificación de solubilidad descrita en la FEUM 9^a edición.

4.3 Ensayos de identidad

4.3.1 Benzonatato

Espectroscopia infrarroja.

Se basa en la medición de la absorción de la radiación infrarroja debido a la interacción con los enlaces que forman los grupos funcionales presentes en las moléculas orgánicas. En la Figura 4.1 se ilustra el espectro en el IR de la muestra y la sustancia de referencia. Las principales bandas de absorción registradas en el espectro IR corresponden a (Transmitancia [%T], Número de onda [cm⁻¹]): 3364 (amina N-H), 2870 (grupo alquilo metilo C-H), 1620 (núcleo bencénico), 1347 (ácido Carboxílico C=O).²⁹.

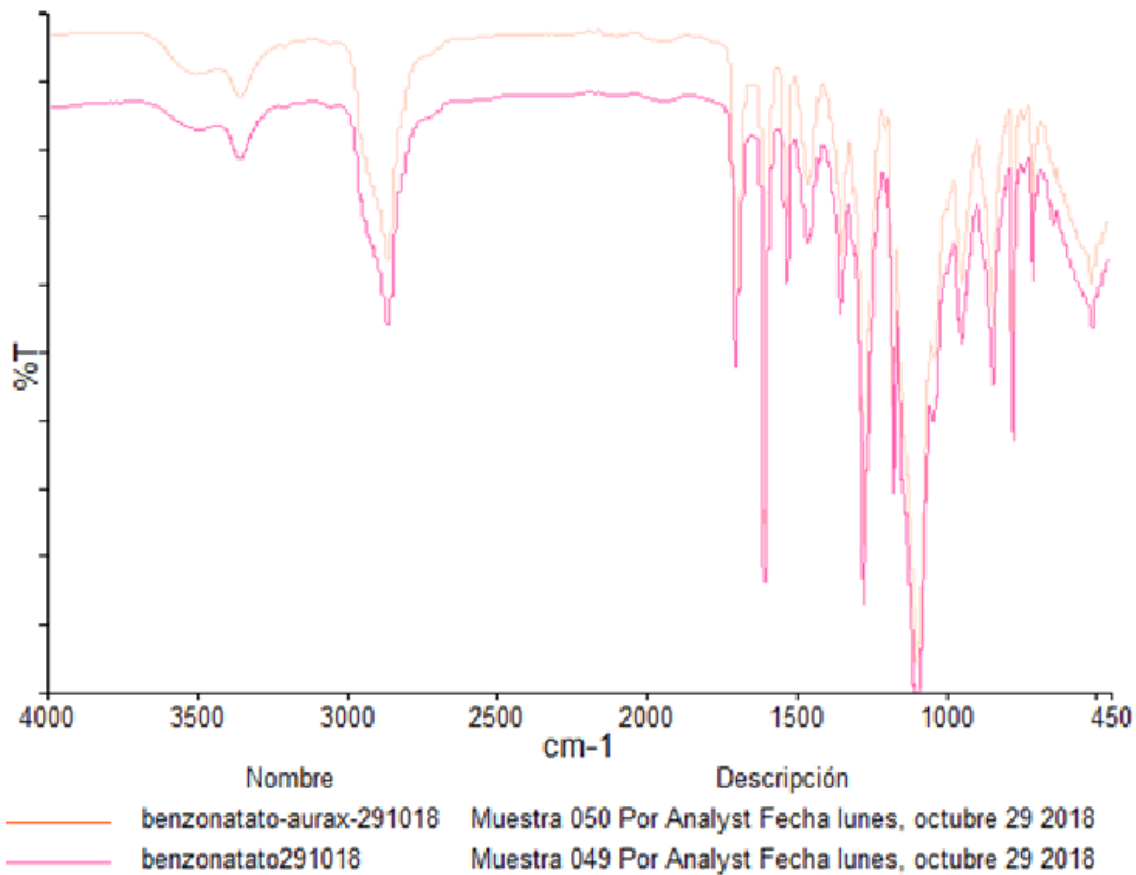


Figura 4.1. Espectro comparativo en el infrarrojo del benzonatato sustancia de referencia y fármaco muestra

Espectrofotometría Visible y Ultravioleta

La espectrofotometría se basa en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. La banda espectral empleada en las mediciones se extiende desde las longitudes de onda corta de la zona ultravioleta hasta la visible del espectro. En la Figura 4.2 se ilustra el espectro en el UV de la solución de referencia y el fármaco en análisis. Como se observa en dicha Figura, los espectros presentan el mismo perfil espectrofotométrico; los máximos de absorción, de ambas soluciones, se presentan en 309 nm y los mínimos de absorción en 245 mn.

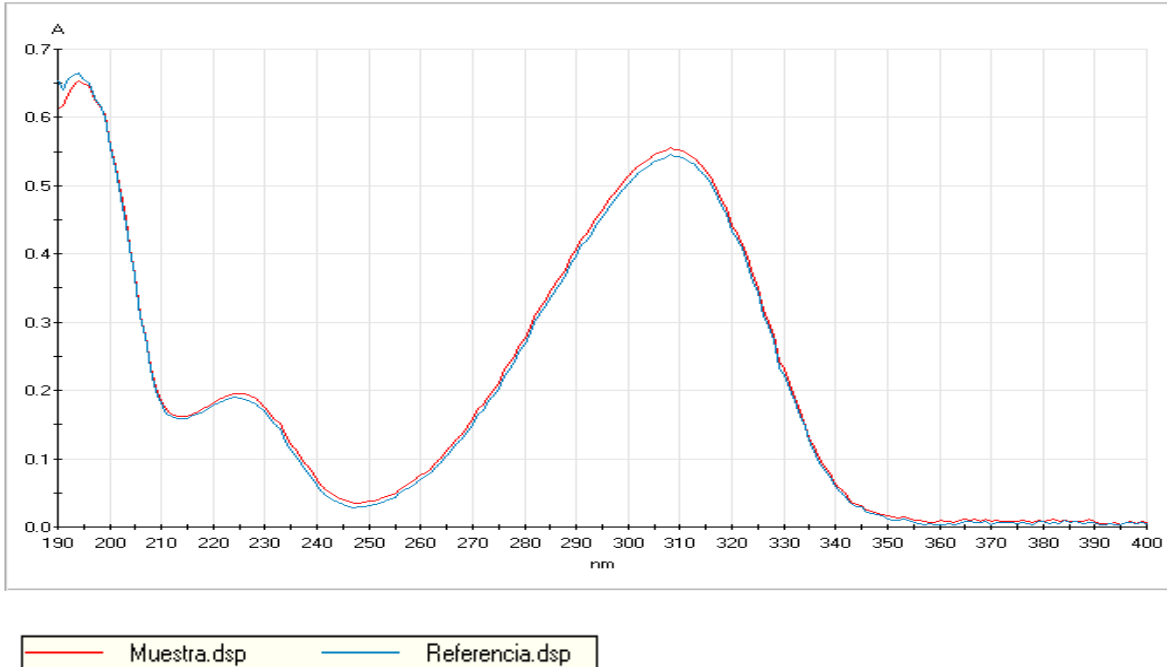


Figura 4.2. Espectro UV comparativo del benzonato sustancia de referencia y el fármaco en análisis

Con base en los resultados obtenidos se concluye que la muestra cumple con los requisitos de identidad (IR, UV) señalados en la edición vigente de la FEUM.

4.3.2 Carbonato de Calcio

Para verificar la presencia del carbonato de calcio se observó, en primer lugar, la efervescencia producida al adicionar ácido acético a 1.0 g del fármaco. Enseguida, se realizaron las pruebas de identidad para calcio. De manera general, la solución ácida se trató con diversas soluciones reactivas para generar reacciones de precipitación. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.4.⁸



Tabla 4.4 Resultados de las pruebas de identidad para el carbonato de calcio.

Solución	Especificación	Resultado
Ácido acético	Efervescencia	$\text{CaCO}_3 + \text{CH}_3\text{COOH} \longrightarrow \text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 + \text{CO}_2\uparrow + \text{H}_2\text{O}$ Formación de acetato de calcio y desprendimiento de CO_2
Oxalato de Calcio	Precipitado	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 + 2 \text{NH}_4\text{OH} \longrightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2 + 2 \text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ Formación de hidróxido de calcio
Ácido Clorhídrico	Soluble	$\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{HCl} \longrightarrow \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O}$ Formación de cloruro de calcio y agua
Ácido acético 6 N	Insoluble	$\text{CaCl}_2 + (\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \longrightarrow 2 \text{NH}_4\text{Cl} + \text{CaC}_2\text{O}_4$ Formación de cloruro de amonio y Oxalato de -Calcio
Flama $\text{CaCO}_3 + \text{HCl}$	Coloración Rojo-amarillo	$\text{CaCO}_3 + 2 \text{HCl} \longrightarrow \text{CaCl}_2 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ Formación de cloruro de calcio y desprendimiento de $\text{CO}_2\uparrow$

Con base en los resultados obtenidos se concluye que la muestra cumple con los requisitos de identidad señalados en la edición vigente de la FEUM.

4.3.3 Cloranfenicol

Espectroscopia Infrarroja

Se basa en la medición de la absorción de la radiación infrarroja debido a la interacción con los enlaces que forman los grupos funcionales presentes en las moléculas orgánicas. En la Figura 4.3 se ilustra el espectro en el IR de la muestra y la sustancia de referencia. Las principales bandas de absorción registradas en el espectro **IR** corresponden a (Transmitancia [%T], Número de onda [cm^{-1}]): 3256, (amina **N-H**), 3078 (grupo **O-H**) 1805 (cloruros de ácido) 1550 (grupos nitro, NO_2 (aromático), 1510 (núcleo bencénico), 830 (aromático sustituido en posición para), 720 (haluros de alquilo **C-Cl**).²⁹

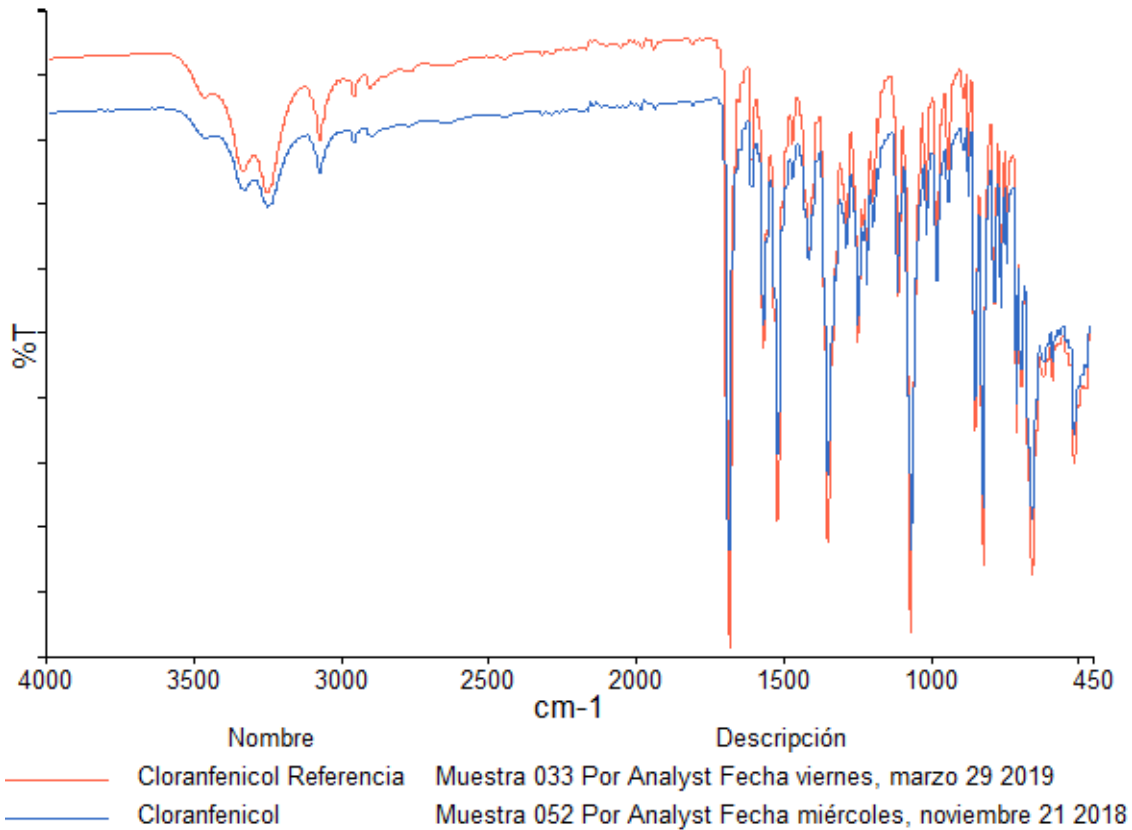


Fig 4.2. IR obtenido de la determinación realizada a la Referencia y muestra de Cloranfenicol.

Cromatografía de líquidos

La identidad del cloranfenicol también se verificó por medio de la comparación de los tiempos de retención entre una solución estándar y una solución muestra. En ambos casos el tiempo de retención obtenido con la preparación de la muestra corresponde con el tiempo de retención obtenido con la preparación de referencia.

En las Figuras 4.4 y 4.5 se ilustran los cromatogramas obtenidos con la solución estándar y la solución muestra; los tiempos de retención obtenidos fueron de 8.5 y 8 para la solución referencia y la solución muestra, respectivamente. Con base en los resultados obtenidos se concluye que la muestra cumple con el ensayo de identidad cromatográfico.

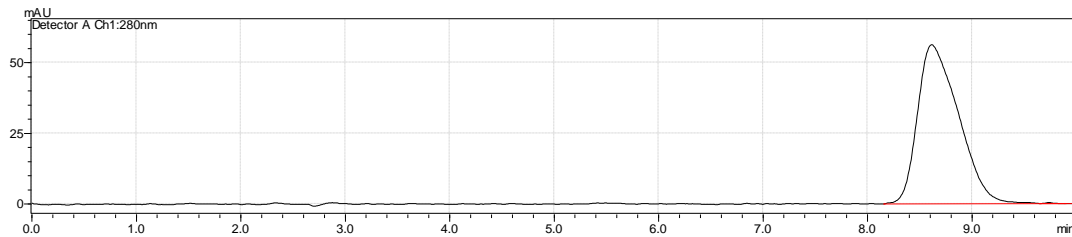


Figura 4.3. Cromatograma de la solución estándar.

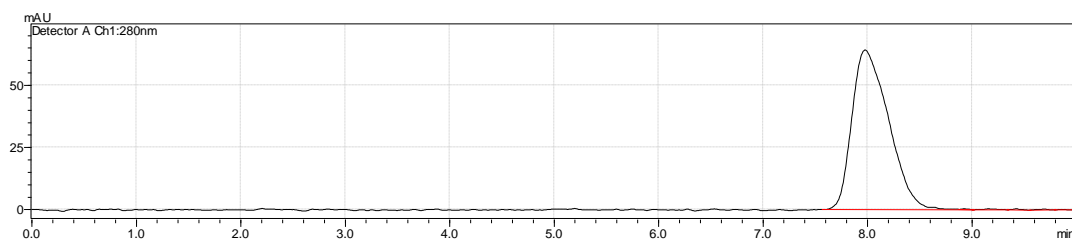


Figura 4.4. Cromatograma de la solución muestra.

Considerando los resultados obtenidos se concluye que la muestra cumple con los requisitos de identidad señalados en la edición vigente de la FEUM.

4.4 Otras pruebas

4.4.1. Índice de Refracción (benzonatato)

El índice de refracción (η) de una sustancia es la relación que existe entre la velocidad de la luz en el aire y en la sustancia que se analiza. Se define también como la relación entre el seno del ángulo de incidencia de un haz de luz en el aire, y el seno del ángulo de dicho haz refractado en la sustancia en análisis. Antes de realizar las determinaciones se verificó el refractómetro de Abbé, con agua, a 20 °C. Se obtuvieron tres lecturas de la muestra (Tabla 4.5) y se calculó el promedio. El resultado obtenido fue de 1.509 y se encuentra dentro del límite establecido en el compendio farmacopeico (1.509-1.511; 20°C).^{10, 11.}



Tabla 4.5 Resultados de la determinación de índice de refracción para el benzonatato

Determinación	Índice de refracción
1	1.510
2	1.509
3	1.509
Promedio	1.509
CV	0.03%

4.4.2. Temperatura de fusión (cloranfenicol)

La temperatura de fusión de un sólido, se define como el intervalo o como un valor específico de temperatura, en el cual, el sólido se colapsa y funde por completo. La temperatura de fusión es una propiedad física que identifica a una sustancia sólida y corresponde al valor de temperatura en el cual, por efecto de la energía calorífica proporcionada a la muestra sólida, las moléculas de esta alcanzan un estado de equilibrio entre la fase sólida y la fase líquida. Se obtuvieron tres lecturas (Tabla 4.6) y se calculó el promedio. El resultado obtenido se encuentra dentro del límite establecido en el compendio farmacopeico (149 y 153 °C).

Tabla 4.6 Resultados de la temperatura de fusión para el cloranfenicol

Determinación	Temperatura de fusión	
	Temperatura inicial	Temperatura final
1	148°C	150°C
2	149°C	150°C
3	149°C	150°C
Promedio	149°C	150°C
CV	0.3%	0%



4.4.3. pH (cloranfenicol)

Entre 4.5 y 7.5.

Determinar en una solución que contenga 25 mg/mL de la muestra

Esta prueba se basa en la determinación de la actividad de los iones hidrógeno, empleando un potenciómetro, con sensibilidad para reproducir valores de pH de 0.05 unidades. Para las mediciones de pH, se utiliza ampliamente el electrodo de vidrio, debido a que registra una respuesta inmediata a los cambios rápidos de las concentraciones de iones hidrógeno aún, en soluciones poco reguladas.

Los valores de pH dependen de la temperatura, por lo tanto, las mediciones deben efectuarse a temperatura constante. Las soluciones empleadas para determinar el pH se preparan con agua exenta de dióxido de carbono. En la Tabla 4.7 se resumen los resultados de las determinaciones realizadas en una solución que contiene 25 mg/mL de cloranfenicol. Como se deduce de los valores obtenidos la muestra analizada cumple con la especificación farmacopeica (entre 4.5 y 7.5).

Tabla 4.7 Resultados de pH en la solución

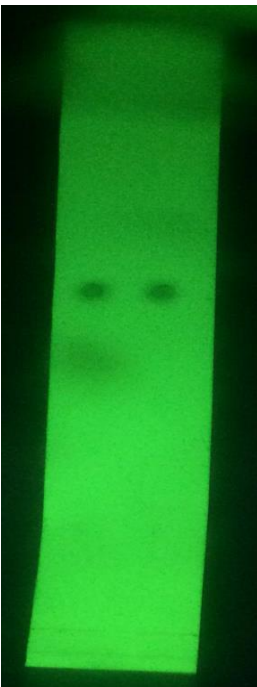
Determinación	pH
1	4.7
2	4.8
3	4.9

4.4.4 Sustancias Relacionadas (cloranfenicol)

Esta técnica es una forma de cromatografía de adsorción que consiste en un adsorbente sólido (fase estacionaria), distribuido uniformemente, sobre una superficie plana (generalmente hojas de aluminio o placas de vidrio). Las partículas finamente divididas del adsorbente le confieren cierta capilaridad y permiten que la fase móvil pase entre ellas. La separación ocurre cuando uno de los componentes de la mezcla es retenido en mayor grado por la fase estacionaria que los demás componentes. El movimiento de cada sustancia en un determinado sistema es



característico y puede ser un dato valioso en la identificación de ella. Esta característica se conoce con el nombre de R_f (relación de frentes) y representa la distancia recorrida por el compuesto, con relación, a la distancia recorrida por la fase móvil; por lo tanto, sus valores siempre oscilan entre 0 y 1. En la Figura 4.6 se ilustra el cromatofolio obtenido, observado, bajo la luz UV a 254 nm; ninguna mancha secundaria se observó con la solución muestra. Con base en este resultado se concluye que el fármaco no contiene sustancias relacionadas (límite: no más de 2.0%).



$$R_f = \frac{10}{17} = 0.6$$

Donde:

D_o =Distancia recorrida por un compuesto desde el origen.

D_f =Distancia recorrida por el frente de la fase móvil

Figura.4.5. Cromatofolio obtenido de la determinación realizada utilizando la técnica farmacopeica.



4.5 Pruebas Límite

4.5.1 Límite de Cloruros

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los cloruros presentes en una muestra dada en un medio ácido con una solución de nitrato de plata, produciendo un precipitado de color blanco de cloruro de plata, el cual se compara visualmente contra el producido por una cantidad conocida de cloruros.

Como se deduce del procedimiento experimental, la prueba, requiere del empleo de una solución volumétrica de ácido clorhídrico 0.020 N. De acuerdo con lo establecido en el capítulo de soluciones volumétricas (FEUM, duodécima edición), la solución de ácido clorhídrico 0.020 N, se preparó por dilución cuantitativa a partir de una solución volumétrica de HCl 0.1 N. Los resultados obtenidos durante la estandarización del HCl 0.1 N se resumen en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8. Resultados de la estandarización

Masa del Na₂CO₃(g) MM 106 g/mol	Volumen de HCl (mL) MM 36.5 g/mol	Normalidad
0.0901	16.5	0.1030
0.1010	18.5	0.1030
0.1118	20.5	0.1029
	Promedio	0.1030
	CV	0.1%

El algoritmo de cálculo utilizado para estimar la normalidad real de la solución es el siguiente:

$$N = \frac{0.1010 \text{ g}}{0.0185 \text{ L} \times 53 \text{ g}} = 0.1030 \text{ N}$$

53 g representa el peso equivalente del carbonato de sodio.

Una vez calculada la normalidad real de la solución se prepararon 100 mL de solución 0.020 N. Para ello, 19.5 mL de HCl 0.1030 N se diluyeron a 100 mL con agua.

Una vez preparada la solución de referencia de HCl se realizó la determinación de cloruros para benzonatato, cloranfenicol y carbonato de calcio. La turbidez



observada en todos los tubos, conteniendo la muestra, fue menor que la turbidez presentada en los correspondientes tubos de referencia. Es importante destacar que el volumen de la solución de referencia de HCl 0.020 N para la determinación de carbonato de calcio es erróneo. En la novena edición el volumen de dicha solución es 0.07 mL y, en la duodécima edición 0.1 mL. Este error tiene un impacto significativo en el límite; cuando se utilizan 0.07 mL el límite corresponde con 0.033% y cuando se emplea 0.1 mL el límite es 0.047%. De lo anterior se deduce la importancia de corroborar, con cálculos, la armonía entre la masa, el volumen de solución de referencia y el límite de la impureza reportado en cada monografía.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos se concluye que el benzonatato, el carbonato de calcio y el cloranfenicol presentan menos de 0.0035%, 0.03% y 0.01% de cloruros, respectivamente.

4.5.2 Límite de sulfatos

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los sulfatos presentes en una muestra dada con una solución de cloruro de bario en un medio ácido, para generar un precipitado de sulfato de bario; este precipitado se compara en forma visual contra el producido por una cantidad conocida de sulfatos.

De acuerdo con el método general de análisis la prueba límite de sulfatos requiere del empleo de una solución volumétrica de ácido sulfúrico 0.020 N. De nueva cuenta la solución de ácido sulfúrico 0.020 N, se preparó por dilución cuantitativa a partir de una solución volumétrica de H₂SO₄ 0.1 N. Los resultados obtenidos durante la estandarización del H₂SO₄ 0.1 N se resumen en la Tabla 4.9.

Tabla 4.9 Resultados de la estandarización del H₂SO₄ 0.1 N

Masa del Na₂CO₃(g) MM 106 g/mol	Volumen de H₂SO₄ (mL) MM 98.07 g/mol	Normalidad
0.0904	15.9	0.10727
0.1018	17.9	0.10730
0.1107	19.6	0.10692
	Promedio	0.1072
	CV	0.2%



El algoritmo de cálculo utilizado para estimar la normalidad real de la solución es el siguiente:

$$N = \frac{0.0904 \text{ g}}{0.0159 \text{ L} \times 53 \text{ g}} = 0.10727 \text{ N}$$

53 g representa el peso equivalente del carbonato de sodio.

Una vez calculada la normalidad real de la solución se prepararon 100 mL de solución 0.020 N. Para ello, 18.7 mL de H₂SO₄ 0.1072 N se diluyeron a 100 mL con agua.

Una vez preparada la solución de referencia de H₂SO₄ se realizó la determinación de sulfatos para benzonatato y carbonato de calcio. La turbidez observada en los tubos, conteniendo la muestra, fue menor que la turbidez presentada en los correspondientes tubos de referencia. Por ende, se concluye que el benzonatato y el carbonato de calcio presentan menos de 0.04% y 0.25% de sulfatos, respectivamente.

4.5.3 Límite de hierro

Esta prueba está diseñada para demostrar el contenido de hierro tanto en su forma férrica como ferrosa. Se basa en la reacción química colorida que ocurre, entre el hierro contenido en la sustancia que se analiza y una solución de tiocianato de amonio, bajo condiciones establecidas.

De manera general, la determinación se realiza por comparación visual de la preparación de la muestra con una solución control preparada, a partir, de una solución de referencia de hierro. En el caso particular del carbonato de calcio el dictamen se realizó con base en la absorbancia registrada por la solución control y la solución muestra. Las absorbancias registradas fueron de 0.056 y 0.008 para el control y la muestra, respectivamente. Con base en los resultados obtenidos se concluye que la muestra cumple con el límite de hierro (0.1%).



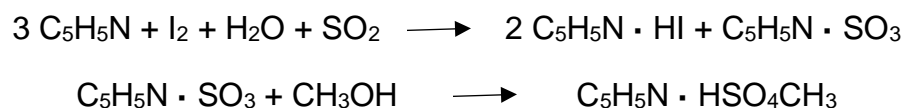
4.5.4 Metales pesados

Esta prueba se utiliza para determinar el contenido de impurezas metálicas que son coloreadas por el ion sulfuro. La determinación se realiza por comparación visual de la muestra con un control preparado a partir de una solución estándar de plomo. El contenido de impurezas metálicas no deberá exceder el límite de metales pesados especificado en la monografía individual, en función del porcentaje (en peso) de plomo.

La comparación visual de los tubos permitió establecer que la muestra no presentó coloración alguna mientras que la solución control presentó una coloración amarillo tenue. Con base en los resultados observados es posible concluir que el carbonato de calcio presenta menos de 20 ppm de metales pesados.

4.6 Determinación de agua por el método de Karl Fischer

El método se basa en la relación cuantitativa que se produce entre el agua y un reactivo constituido por dióxido de azufre y yodo, en piridina y metanol anhidro, de acuerdo con las siguientes reacciones:



Antes de determinar el contenido de agua en la muestra de benzonatato se determinó el valor del factor del reactivo de Karl Fischer utilizando tartrato de sodio como patrón primario. Los resultados obtenidos para esta determinación se resumen en la Tabla 4.10.



Tabla 4.10 Datos obtenidos para calcular el valor del factor del reactivo de Karl Fischer

Peso de la nave con muestra (mg)	Peso de la nave vacía (mg)	Diferencia de peso (mg de muestra)	Volumen del reactivo de Karl-Fischer (mL)
16081.7	15939.8	141.9	4.90
13549.4	13416.2	133.2	4.72
14024.5	13901.1	123.4	4.38

Para calcular el valor del factor “F” del reactivo de Karl Fischer se utilizó el siguiente algoritmo:

$$F_1 = 2 \left(\frac{18.02}{230.08} \right) \left(\frac{141.9 \text{ mg}}{4.90 \text{ mL}} \right) = 4.54 \frac{\text{mg H}_2\text{O}}{\text{mL KF}}$$

$$F_2 = 2 \left(\frac{18.02}{230.08} \right) \left(\frac{133.2 \text{ mg}}{4.72 \text{ mL}} \right) = 4.42 \frac{\text{mg H}_2\text{O}}{\text{mL KF}}$$

$$F_3 = 2 \left(\frac{18.02}{230.08} \right) \left(\frac{123.4 \text{ mg}}{4.38 \text{ mL}} \right) = 4.42 \frac{\text{mg H}_2\text{O}}{\text{mL KF}}$$

De acuerdo con estos resultados el valor promedio de F es de 4.46 mg de $\text{H}_2\text{O}/\text{mL}$ reactivo de Karl Fischer ($\text{CV} = 1.5\%$).

Una vez obtenido el valor del factor se realizó la determinación de agua en la muestra de Benzonatato. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.11.

Tabla 4.11 Datos obtenidos para determinar el contenido de agua en la muestra

Peso de la jeringa con muestra (mg)	Peso de la jeringa vacía (mg)	Diferencia de peso (mg de muestra)	Volumen del reactivo de Karl-Fischer (mL)
7550.8	4325.7	3225.1	11.71
5665.1	3293.0	2372.1	8.64

El porcentaje de agua en la muestra se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:



$$M_1 \% \text{ agua} = 100 \left(\frac{4.46 \text{ mg } H_2O}{\text{mL KF}} \right) \left(\frac{11.7130 \text{ mL KF}}{3225.1 \text{ mg benzonatato}} \right) = 1.6\%$$

$$M_2 \% \text{ agua} = 100 \left(\frac{4.46 \text{ mg } H_2O}{\text{mL KF}} \right) \left(\frac{8.64 \text{ mL KF}}{2372.1 \text{ mg benzonatato}} \right) = 1.6\%$$

Con base en los resultados obtenidos se concluye que la muestra contiene 1.6% de agua; por lo tanto, no cumple con el límite farmacopeico (0.3%).

4.7 VALORACIÓN

Titulaciones residuales. En algunas titulaciones se requiere agregar un exceso medido de la solución volumétrica necesario para reaccionar con la sustancia por valorar. El exceso se titula con una segunda solución volumétrica, lo que constituye propiamente la titulación residual, o titulación por retroceso.

La cantidad de sustancia contenida en la solución muestra, se calcula tomando en cuenta:

- La diferencia entre el volumen de la solución volumétrica agregada previamente y el volumen de la segunda solución volumétrica, empleado en la retrotitulación
- Las normalidades de las dos soluciones volumétricas
- El factor de equivalencia especificado en la monografía correspondiente

Titulación Directa. Una titulación directa implica la valoración de un analito, en solución, con un agente valorante; la solución valorante se adiciona gradualmente hasta que la reacción es completa. El punto de equivalencia, es el punto donde la cantidad adicionada de valorante es exactamente la necesaria para que reaccione estequiométricamente con el analito. El punto final de la titulación puede determinarse electrométricamente por medio de un medidor potenciométrico, o bien, de forma visual utilizando un indicador apropiado.



4.7.1 Benzonatato

Antes de valorar el benzonatato se estandarizaron dos soluciones volumétricas: NaOH 0.5 N y HCl 0.5 N. Los resultados de las estandarizaciones se resumen en las Tablas 4.12 y 4.13.

Tabla 4.12 Resultados de la estandarización del HCl 0.5 N

Masa del Na ₂ CO ₃ (g) MM 106 g/mol	Volumen de HCl (mL) MM 36.5 g/mol	Normalidad
0.6758	24.1	0.52908 N
0.7506	27.1	0.52259 N
0.8251	29.5	0.52772 N
	Promedio	0.5266 N
	CV	0.6%

Tabla 4.13 Resultados de la estandarización del NaOH 0.5 N

Masa del C ₈ H ₈ KO ₄ (g) MM 204.2 g/mol	Volumen de NaOH (mL) MM 40.0 g/mol	Normalidad
2.2506	22.0	0.50097 N
2.5018	24.5	0.50006 N
2.7508	26.9	0.50078 N
	Promedio	0.5006 N
	CV	0.09%

Una vez estandarizadas las soluciones se realizó el ensayo de valoración. En la Tabla 4.14 se resumen los resultados obtenidos. De acuerdo con el porcentaje promedio, de fármaco, se concluye que la muestra se encuentra dentro del límite establecido en la farmacopea (95.0%-105.0%).

Tabla 4.14 Resultados del ensayo de valoración

Determinación	Masa de la muestra (g)	Volumen de HCl 0.5 N	% de Benzonatato
1	5.0383	9.6 mL	97.1%
2	4.4282	11.6 mL	96.1%
Blanco	-----	25 mL	-----
		Promedio	96.6%
		CV	0.7%



4.7.2 Carbonato de Calcio

Previa valoración del carbonato de calcio se estandarizó una solución de edetato disódico 0.05 M (Tabla 4.15). La solución recién estandarizada se utilizó para realizar el ensayo de valoración. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.16. Con base en los resultados obtenidos se concluye que el carbonato de calcio cumple con el límite farmacopeico (98.0%-100.5%).⁹

Tabla 4.15 Resultados de la estandarización de EDTA

Masa del carbonato de sodio anhidro (g) MM 100.09 g/mol	Volumen de EDTA (mL)	Molaridad
0.1804	37.5	0.04806 M
0.2001	41.1	0.04864 M
0.2204	45.0	0.04893 M
	Promedio	0.0485 M
	CV	0.9%

Tabla 4.16 Resultados del ensayo de valoración

Determinación	Masa de la muestra (g)	Volumen de Edetato disódico (mL)	% de carbonato de calcio
1	0.1820	36.8	98.1
2	0.2003	40.6	98.4
3	0.2200	44.5	98.2
		Promedio	98.2%
		CV	0.1



4.7.3 Cloranfenicol

Contiene no menos de 97.0% y no más de 103.0% de cloranfenicol.

Las técnicas de separación cromatográfica son métodos de separación de múltiples etapas en los que los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases. Una de las fases es estacionaria y la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido absorbido sobre un sólido o un gel. Dicha fase puede estar empacada en una columna, extendida como una capa, distribuida como película o aplicada mediante otras técnicas. La fase móvil puede ser gaseosa, líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en la adsorción, la distribución de masa (partición) o intercambio iónico; también, puede basarse en diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, tales como tamaño, masa o volumen.

En las Tablas 4.17 y 4.18 se resumen los resultados obtenidos para la adecuabilidad del sistema y el ensayo de valoración, respectivamente. Como se deduce de los resultados generados el contenido del fármaco (105.3%) se encuentra fuera del rango especificado en la monografía; el coeficiente de variación (CV) entre las muestras fue menor al 2.0%. Por lo tanto, el cloranfenicol no cumple con el ensayo de valoración (97.0% - 103.0%).



Tabla 4.17 Adecuabilidad del sistema

Corrida	Área	Número de platos teóricos	Factor de coleo	Tiempo de retención (min)
1	1469897	2244.9	1.482	8.5
2	1467683	2236.3	1.483	8.4
3	1454155	2286.9	1.469	8.1
4	1453162	2259.2	1.487	8.0
5	1448335	2331.8	1.469	7.9
6	1448270	2357.8	1.484	7.9
Promedio	1456965			
CV	0.6%			

Tabla 4.18 Datos obtenidos durante la valoración del cloranfenicol

Muestra	Masa de la muestra (mg)	Área	Número de platos teóricos	Factor de coleo	Tiempo de retención	Porcentaje de fármaco
1	200.4 mg	1562900	2331.7	1.489	7.9	106.2
2	220.4 mg	1689360	2335.3	1.489	7.9	104.4

De acuerdo con la metodología farmacopeica para gotas oftálmicas de cloranfenicol, las condiciones cromatográficas del ensayo de valoración, corresponden con las del fármaco. Por este motivo, el método se aplicó para analizar la solución oftálmica denominada Cloran. Los resultados generados durante este análisis se resumen en las Tablas 4.19 y 4.20. Como se deduce de los datos obtenidos el promedio de cloranfenicol corresponde con el 116.8 % y el CV calculado entre las réplicas fue del 3.4%. Con base en estos resultados se concluye que el análisis debe repetirse ya que carece de precisión.



Tabla 4.19 Resultados de las seis inyecciones repetidas para la solución estándar de la solución oftálmica de cloranfenicol (CLORAN).

Corrida	Área	Número de platos teóricos	Factor de coleo	Tiempo de retención
1	1624218	2019.5	1.594	6.4
2	1627583	2020.3	1.606	6.3
3	1621447	2054.1	1.618	6.3
4	1622765	2048.7	1.624	6.3
5	1611538	2044.9	1.629	6.2
6	1600808	2064.6	1.640	6.2
Promedio	1618105			
CV	0.6%			

Tabla 4.20 Resultados de la Valoración de la Forma Farmacéutica de Cloranfenicol (Solución Oftálmica)

Muestra	Volumen de la muestra (mL)	Área	Número de platos teóricos	Factor de coleo	Tiempo de retención
1	5 mL	1810472	2009.9	1.624	6.2
2	5 mL	1898953	2003.0	1.661	6.2



5 Conclusiones

Los métodos descritos en los compendios farmacopeicos son idóneos para analizar los fármacos propuestos. Todos los protocolos son factibles de realizar en los laboratorios de docencia y en el tiempo establecido para el curso práctico.

El presente trabajo contribuyó con: la elaboración de la segunda parte del manual de prácticas para la asignatura y con los objetivos propuestos en el proyecto PAPIME PE209018 (PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS PARA LA INNOVACIÓN Y MEJORAMIENTO DE LA ENSEÑANZA PAPIME 2018).



6 Bibliografía.

1. Benzonatato. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 851.
 - Generalidades: solubilidad. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Novena Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2011.
 - Soluciones volumétricas. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 145-46.
 - MGA 0041 (Determinación de Agua por Karl-Fischer); MGA 0161 (Límite de cloruros); MGA 0351 (Espectrofotometría Infrarroja); MGA 0361 (Espectrofotometría Ultravioleta); MGA 0741 (Índice de Refracción); MGA 0861 (Prueba límite de sulfatos); MGA 0991 (Volumetría). En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 238-241, 273-74, 350-357, 357-361, 473, 480, 505-09.
2. Catterall, W. y Mackie, K. 2007. Anestésicos Locales. En Goodman & Gilman. Las bases Farmacológicas de la Terapéutica. Buenos Aires, Argentina: Mc Graw Hill. 396-386.
3. Carbonato de Calcio. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 880.
 - Generalidades: solubilidad. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Novena Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2011.
 - Soluciones volumétricas. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 145-46.
 - MGA 0161 (Límite de cloruros); MGA 0561 (Prueba límite de sulfatos); MGA 0671 (Pérdida por secado); MGA 0861 (Metales pesados); MGA 0991 (Volumetría). En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 273-74, 427-30, 462-63, 480, 505-09.
4. Carbonato de Calcio. En: Farmacopea de los Estados Unidos de , America. USA. USP 41-NF36, 2018. United States Pharmacopeia. 1050-1051.



5. Chang, R, 2017. Química. El estudio del cambio. En Química. China: Mc Graw Hill. pp. 14-22.
6. Chang, R, 2017. Reacciones en Disolución Acuosa. En Química. China: Mc Graw Hill. 120-151.
7. Chang, R, 2017. Propiedades Físicas de las Disoluciones. En Química. China: Mc Graw Hill. 514-524.
8. Cloranfenicol. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 922.
 - Generalidades: solubilidad. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Novena Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2011.
 - Soluciones volumétricas. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014, 145-46.
 - Ensayos de identidad: MGA 0351 (Espectroscopia IR), MGA 0241 (Cromatografía CLAR); MGA 0471 (Temperatura de fusión); MGA 0701 (pH); MGA 0241 (Sustancias relacionadas); MGA 0161 (Límite de cloruros); MGA 0241 (CLAR). En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2014.
9. Connors, K. 1981. Valoraciones Complejométricas. En: Curso de Análisis Farmacéutico. España: Reverté. 87-105.
10. Connors, K. 1981. Refractometría. En: Curso de Análisis Farmacéutico. España: Reverté. 271-280.
11. Determinación de índice de refracción de líquidos, Disponible en: https://www.google.com.mx/search?hl=es419&source=hp&ei=MbqBXZqoOcbAsAWppyIBA&q=determinacion+del+indice+de+refraccion+de+liquidos&oq=indice+de+refraccion+de+li&gs_l=psyab.3.6.0i3j0i22i10i30j0i22i30i6.3894.15928..25996...0.0..0.139.2500.19j7.....0....1..gswiz.....0i131.drtEIY_u1ws (Citado el 13 de abril 2019). UNAM- FES Cuatitlán, 2018.
12. Drug Bank Benzonatate Disponible en: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00868> (Citado el 07 de abril del 2019).
13. Drug Bank, Calcium Carbonate. Disponible en: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB06724> (Citado el 08 de abril del 2019).



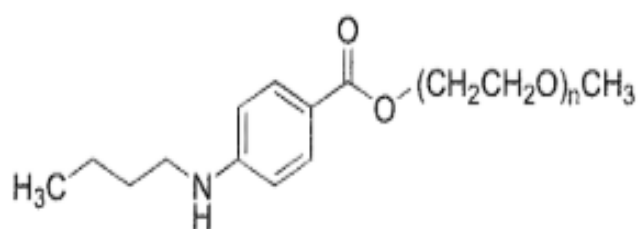
14. Drug Bank,. Chloramphenicol. Disponible en <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00446> (Citado el 12 de abril del 2019).
15. Flórez. J. y Esplugues, J. 2000. Farmacología de la secreción ácida gástrica y de la ulceración de la mucosa digestiva. En: Farmacología Humana. Barcelona: Mansson. S.A. 768.}
16. FEUM Farmacopea de los estados unidos mexicanos. Disponible en: [https:// https://www.farmacopea.org.mx/que-esfeum.php?m=2&sb=9&f=0](https://www.farmacopea.org.mx/que-esfeum.php?m=2&sb=9&f=0) (Citado el 15 de marzo del 2019).
17. Ley General de Salud. 2018. En Diario Oficial de la Federación. Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/pdf/wo11037.pdf> (Citado el 13 de marzo 2019).
18. OMS. Antibióticos 2019. Disponible en: <https://www.who.int/es/newsroom/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos> (citado el 08 de abril del 2019).
19. PAREDES. F y ROCA J 2004. OFFARM: “Ambito Farmacéutico Acción de los antibióticos: Perspectiva de la Medicación Antimicrobiana” Marzo 2004. 116-124 Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13059414> (Citado 15 de abril del 2019).
20. Plan de Estudios 2005 Carrera QFB Facultad de Química Disponible en: <https://quimica.unam.mx/ensenanza/licenciaturas-de-la-facultad-de-quimica/quimica-farmaceutico-biologica/> (Citado el 08 de noviembre del 2019)
21. PUBCHEM, Benzonatate. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7699#section=Pharmacology-and-Biochemistry> (Citado el 08 de abril 2019).
22. PUBCHEM, Calcium Carbonate. Disponible en: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/calcium_carbonate#section=Bionecessity (Citado el 05 de abril del 2019).
23. PUBCHEM, Cloramphenicol. Disponible en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5959> (Citado el 14 de abril del 2019)



24. Programa de Estudios de la asignatura Análisis de Medicamentos
Facultad de Química UNAM Disponible en:
<https://quimica.unam.mx/wpcontent/uploads/2017/03/1705AM.pdf> (citado el 08 noviembre del 2019)
25. Rang, H. P. y Dale, M. M. 2012. Anestésicos Generales. En: Rang & Dale Farmacología. Barcelona, España: Elsevier. 525-530.
26. Rang, H. P. y Dale, M. M. 2012. Aparato Digestivo. En: Rang & Dale Farmacología. Barcelona, España: Elsevier. 388.
27. Reglamento de la COFEPRIS. Disponible en:
<http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/regla/29.PDF> (Citado el 14 de marzo del 2019)
28. Reglamento de Insumos para la Salud, 2008. En Diario Oficial de la Federación. Disponible en:
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/Combo/R-23.pdf> (Citado el 17 de marzo del 2019).
29. Rojo F. 2019 UNAM, Facultad de Química. Tablas de Espectroscopia Infrarroja. Disponible en:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR_34338.pdf (citado el 30 de junio del 2019).
30. Secretaría de Salud. 2019. Disponible en:
<https://www.gob.mx/gobierno#secretarias> (Citado el 17 de marzo del 2019)
31. Vannier, 2008. Calcium Carbonate. Disponible en:
http://www.vannier.com.ar/assets/calcio_base.pdf (Citado el 06 de abril del 2019).



ANEXO I PROTOCOLO EXPERIMENTAL DEL ANÁLISIS DE UN FÁRMACO



Práctica 1

ANÁLISIS DE BENZONATATO

ANÁLISIS DE BENZONATATO

1 OBJETIVOS

1.1. Objetivo general

Proporcionar al alumno los conocimientos prácticos que le permitan aplicar e interpretar de manera correcta los métodos farmacopeicos de mayor aplicación para el análisis de fármacos y aditivos

1.2 Objetivos particulares

- Aplicar los métodos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (Edición 12ª) para realizar las siguientes determinaciones: solubilidad, identidad, cloruros, sulfatos, agua, índice de refracción y valoración.
- Realizar el trabajo experimental con el rigor científico necesario y cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- Verificar que los métodos descritos en el compendio farmacopeico son idóneos para analizar el fármaco.
- Propiciar el desarrollo de habilidades y destrezas para realizar el análisis de un fármaco.
- Fomentar la responsabilidad que conlleva el tratamiento, confinamiento y disposición de los residuos generados durante el análisis.

2 ANTECEDENTES

El benzonatato es un antitusivo oral, no narcótico, que actúa anestesiando los tejidos del pulmón y la pleura responsables del reflejo de la tos. Químicamente está relacionado con los agentes anestésicos de la clase del ácido *p*-aminobenzoico (procaína, tetracaína) y comparte con ellos algunos aspectos de su farmacología y toxicología. A diferencia de la hidrocodona y la codeína, el benzonatato, no posee serios efectos colaterales (dependencia). A pesar de que las formulaciones actuales de benzonatato se consideran seguras, si la cápsula es masticada o disuelta en la boca, el fármaco liberado produce una rápida anestesia orofaríngea y puede ocasionar asfixia.

Actualmente, el benzonatato grado farmacéutico, es una mezcla del 4-aminobenzoato de butilo que tiene la siguiente fórmula general:



n: es el número de unidades etoxilo

De acuerdo con la USP, la denominación "benzonatato", corresponde con la mezcla del 4-aminobenzoato de butilo que contiene entre 3 y 17 unidades etoxilo.

ANÁLISIS DE BENZONATATO

Defina los siguientes términos:

Materia prima:

Bibliografía

Fármaco (principio activo):

Bibliografía

Aditivo:

Bibliografía

3. Procedimiento Experimental

Marbete del fármaco:

En la siguiente Tabla escriba la información relacionada con la muestra objeto de análisis:

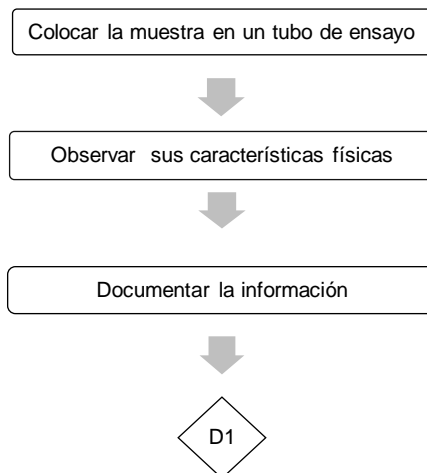
Nombre de la muestra:
Descripción:
Tamaño de la muestra:
Fecha de muestreo:
Número de lote:
Proveedor
Fecha de caducidad:
Especificaciones para el análisis: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
Condiciones de almacenamiento:

3.1 Descripción (FEUM, 12ª edición)

Líquido viscoso claro, de color amarillo.

3.1.1 Procedimiento. Colocar en un tubo de ensayo una pequeña cantidad de muestra. Registrar las características físicas observadas.

3.1.2 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento. Identifique los residuos generados.



Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Benzonatato	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos

3.1.3 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Pipeta graduada de 5 mL
1	Tubo de ensayo 12 x 75 mm

Resultados

3.1.4 Escriba las características físicas de la muestra objeto de análisis

3.1.5 Dictamen

3.2 Solubilidad

Fácilmente soluble en alcohol, benceno y cloroformo; miscible con agua en todas proporciones

3.2.1 Fundamento

Siempre que se menciona a la solubilidad debe entenderse que es el grado de disolución de un polvo en un disolvente, a la temperatura de 25°C durante 30 minutos, con agitación vigorosa de 30 s en intervalos de 5 min. Esta propiedad se evaluará de acuerdo con los términos señalados en la FEUM 9ª edición.

3.2.2 Realice un análisis comparativo entre los términos de solubilidad descritos en las ediciones 9ª, 11ª y 12ª de la FEUM. Documente la información en la Tabla 1.

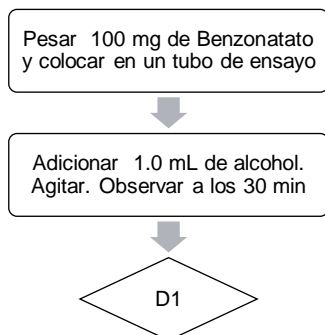
Tabla 1. Términos de solubilidad

	FEUM, Novena Edición	FEUM, Undécima Edición	FEUM, Duodécima Edición
TÉRMINOS	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto
Muy soluble	Menos de una parte	Menos de una parte	Menos de una parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes
Soluble	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes
Ligeramente soluble	De 101 a 1 000 partes	De 31 a 100 partes	De 31 a 100 partes
Poco soluble	De 31 a 100 partes	De 101 a 1 000 partes	De 101 a 1 000 partes
Muy poco soluble	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes
Casi insoluble	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes

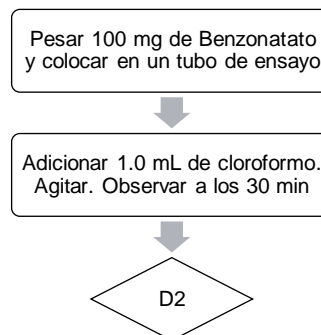
3.2.3 Procedimiento. Pesar, por separado, 4 masas de benzonatato y disolverlas con alcohol, benceno, cloroformo y agua en las proporciones indicadas en la FEUM 9ª edición.

3.2.4 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento de solubilidad. Identifique los residuos generados.

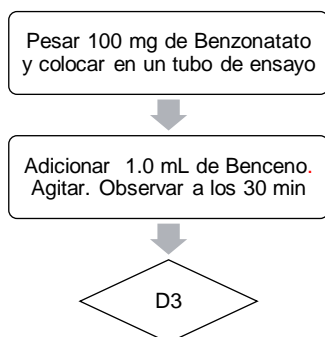
Solubilidad en alcohol



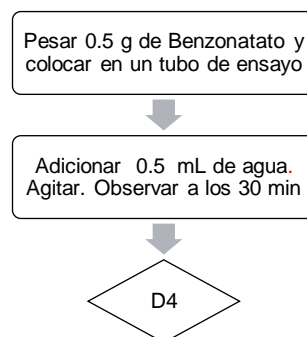
Solubilidad en cloroformo



Solubilidad en benceno



Miscibilidad en agua



Este diagrama representa solo un ejemplo de las proporciones de masa y disolvente indicadas en la FEUM para realizar la determinación. Considerando que el objetivo de este ensayo no es determinar el volumen de disolvente en el que se solubiliza el fármaco, para cada determinación que se realice, se empleará el volumen máximo de disolvente permitido

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Benzonatato y alcohol	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Benzonatato y cloroformo	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D3	Benzonatato y benceno	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D4	Benzonatato y agua	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.2.5 Material y reactivos

Cantidad	Material
4	Tubo de ensayo de 16 x 150 mm
4	Pipeta graduada de 1 mL
1	Gradilla
1	Pipeta beral

Reactivos

Agua destilada

Alcohol RA

Cloroformo RA

Benceno RA

Muestra

Benzonatato

Resultados

3.2.6 Registre los resultados obtenidos en las siguientes Tablas:

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

Marca:

Número:

Término de solubilidad ⁽¹⁾	Masa de Benzonatato (g)	Disolvente utilizado (mL)	Resultado	Dictamen

¹FEUM, 12ª edición

3.3 Ensayos de Identidad

3.3.1 Fundamento

Los ensayos de identidad en cada monografía están destinados a verificar que la sustancia que se analiza corresponde con la indicada en el marbete (USP, 37ª Ed).

3.3.2 Ensayos de Identidad A

3.3.2.1 Fundamento. Se basa en la medición de la absorción de la radiación infrarroja debido a la interacción con los enlaces que forman los grupos funcionales presentes en las moléculas orgánicas.

3.3.2.2 Procedimiento MGA 0351. Espectrofotometría infrarroja. El espectro IR de una película de la muestra de benzonatato, corresponde al obtenido con una preparación similar de la sustancia de referencia de benzonatato.

Para muestras líquidas

Película. Colocar una gota del líquido entre 2 placas de cloruro de sodio u otro material transparente a la radiación infrarroja para formar una película delgada o, llenar directamente una celda adecuada con la muestra, evitando, la presencia de burbujas.

Antes de registrar el espectro en el IR de la muestra, revisar, el instructivo de uso del instrumento.

3.3.2.3 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento del ensayo de identidad
A. Identifique los residuos generados.

Residuos generados:
No aplica

3.3.2.4 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Espátula
1	Piseta

Muestra
Benzonatato

Resultados

Resultados

3.3.2.5 En la siguiente Tabla, registre las características de los equipos/instrumentos empleados y los datos de la sustancia de referencia:

Equipo/instrumento utilizado
IR
Marca:
Sustancia de referencia
Pureza:
Proveedor/marca:
Lote:

3.3.2.6 Anexe una imagen del espectro en el IR de la muestra y la sustancia de referencia. Interprete los espectros.

3.3.2.7 Dictamen

3.3.3 Ensayos de Identidad B

3.3.2.1 Fundamento. La espectrofotometría UV se basa en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias, de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. La banda espectral empleada en las mediciones se extiende desde las longitudes de onda corta de la zona ultravioleta hasta la visible del espectro.

3.3.2.2 Procedimiento MGA 0361. Espectrofotometría ultravioleta. El espectro en el UV de una solución muestra que contienen 15 µg/mL corresponde al obtenido con una solución similar de la sustancia de referencia de benzonatato.

Procedimiento sugerido: pesar 15 mg de la sustancia de referencia o de la muestra y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL; diluir a volumen con agua. Diluir 5 mL de la solución anterior, con agua, hasta 50 mL.

Antes de registrar el espectro en el UV de la muestra, revisar, el instructivo de uso del instrumento.

3.3.2.3 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento del ensayo de identidad B. Identifique los residuos generados.

3.3.2.4 Material y reactivos

Cantidad	Material
2	Matraz volumétrico de 100 mL
2	Matraz volumétrico de 50 mL
2	Pipeta volumétrica de 5 mL
2	Vaso de precipitados de 250 mL
1	Espátula
2	Nave de pesado
1	Pipeta Pasteur

Reactivos

Agua

Muestra

Benzonatato

Resultados

3.3.2.5 En la siguiente Tabla, registre las características de los equipos/instrumentos empleados y los datos de la sustancia de referencia:

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:
UV
Marca:
Número:
Sustancia de referencia
Pureza:
Proveedor/marca:
Lote:
Masa de la muestra:
Masa de la sustancia de referencia:

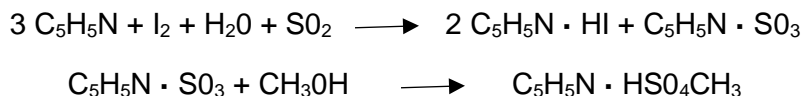
3.3.2.6 Anexe una imagen del espectro en el UV de la muestra y la sustancia de referencia. Interprete los espectros.

3.3.2.7 Dictamen

3.4. Agua

3.4.1 Fundamento

El método se basa en la relación cuantitativa que se produce entre el agua y un reactivo constituido por dióxido de azufre y yodo, en piridina anhidra y metanol anhidro, de acuerdo con las siguientes reacciones:



3.4.2 Titulación directa

3.4.2.1 Reactivo de Karl-Fischer

Para esta determinación se utilizará una solución comercial del reactivo.

3.4.2.2 Estandarización del reactivo. Determinar el factor del reactivo de Karl-Fischer el día de su uso.

- a. Con tartrato de sodio (para determinar cantidades de agua menores al 1.0 por ciento). Transferir alrededor de 36 mL de metanol al vaso de titulación, accionar el mecanismo de la bureta automática y permitir que se neutralice cualquier cantidad de agua que pudiera estar presente en el metanol. No debe considerarse este gasto de reactivo para el cálculo del factor. Agregar rápidamente de 150 mg a 350 mg de tartrato sódico dihidratado exactamente pesado por diferencia y titular hasta el punto final.

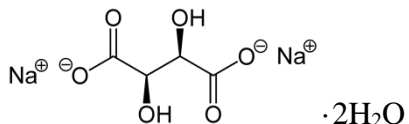
El factor equivalente de agua "F" en miligramos de agua por mililitro de reactivo, se obtiene por medio de la fórmula:

$$F = 2 \left(\frac{18.02}{230.08} \right) \left(\frac{p}{v} \right)$$

Donde:

- 18.02 = Peso molecular del agua expresado en mg
230.08 = Peso molecular del tartrato de sodio dihidratado expresado en mg
 p = mg de tartrato de sodio dihidratado
 v = volumen en mililitros del reactivo de Karl-Fischer (KF) usado en la titulación

Molécula de tartrato de sodio dihidratado:



- b. Con agua (para la determinación precisa de cantidades significativas de agua, 1.0 por ciento o mayores). Proceder como se indica en el inciso (a), agregando como sustancia de referencia, en vez de tartrato disódico, entre 25 mg a 250 mg de agua destilada exactamente pesada por diferencia. Para este propósito, usar una pipeta, jeringa o

micropipeta precalibrada. Titular hasta el punto final y calcular el factor equivalente de agua "F", en miligramos de agua por mililitro de reactivo, de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$F = \left(\frac{P}{V} \right)$$

Donde:

- p = mg de H₂O
 v = volumen en mililitros del reactivo de Karl-Fischer (KF) usado en la titulación

- c. Preparación de la muestra.** A menos que se especifique otra cosa en la monografía del producto, usar una cantidad de la muestra, exactamente pesada o medida, que se estime contenga de 10 mg a 250 mg de agua.

3.4.2.3 Procedimiento. A menos que otra cosa se indique en la monografía individual, transferir de 35 mL a 40 mL de metanol, al vaso de titulación y neutralizar el agua que pudiera contener, accionando el interruptor de la bureta automática y esperando la señal del aparato que indica el término de la reacción. Este gasto de reactivo, no debe tomarse en consideración para los cálculos.

Agregar rápidamente la muestra, contenida en una jeringa, al vaso de titulación; pesar la jeringa vacía, agitar y titular con el reactivo de Karl-Fischer hasta el punto final. Calcular el contenido de agua en la muestra, en por ciento, de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$\text{Porcentaje de agua} = 100 (S) \left(\frac{F}{P} \right)$$

Donde:

- S = Volumen en mililitros del reactivo de Karl-Fischer consumido
 F = Factor equivalente de agua del reactivo de Karl-Fischer
 P = Peso en miligramos de la muestra (pesados por diferencia)

Recomendaciones especiales

1. No es necesario cambiar la solución después de cada determinación, es decir, pueden realizarse determinaciones consecutivas en la misma solución.
2. El método no es aplicable en sustancias que reaccionen con yodo (ácido ascórbico)

3.4.3 Procedimiento

3.4.3.1 Estandarización del reactivo de Karl Fischer

Revisar el instructivo de uso del acuómetro.

- a. Adicionar, al vaso de titulación, de 30 a 40 mL de metanol. Agitar empleando la barra magnética. Enseguida, con la bureta automática, adicionar el reactivo de Karl Fischer para eliminar el agua del metanol. Esperar la señal del aparato que indique el término de la reacción (lectura en mV).
- b. Agregar, entre 150 mg a 350 mg de tartrato sódico dihidratado exactamente pesado por diferencia.
- c. Titular con el reactivo de Karl Fischer. Esperar la señal del aparato que indique el término de la reacción (lectura en mV). Calcular el título con una cifra decimal.
- d. Realizar tres réplicas para determinar el título del reactivo.

Nota: el porcentaje de reporta en % m/m.

3.4.3.2 Análisis de agua en la muestra. Previa determinación del título del factor, analizar la muestra de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Agregar al vaso de titulación 3 mL de muestra. Registrar la masa de la muestra (pesada exactamente por diferencia).
2. Titular con el reactivo de Karl Fischer accionando el interruptor de la bureta automática y esperando la señal del aparato que indique el término de la reacción (lectura en mV).
3. Realizar dos réplicas

Criterios de aceptación: La muestra no contiene más del 0.3 %.

3.4.4 Con base en la información proporcionada elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

Residuos generados

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Reactivo de Karl Fischer (I ₂ , piridina, SO ₂ y MeOH) y benzonatato.	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.4.5 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Microjeringa
3	Jeringa de plástico de 5 mL
1	Nave de pesado

Reactivos

Agua destilada

Metanol seco

Reactivo de Karl Fischer

Tartrato de sodio dihidratado RA

Muestra

Benzonatato

Resultados

3.4.6 Registre las características de los equipos/instrumentos empleados en la siguiente Tabla:

Equipo utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:
Acuómetro
Marca:

3.4.6.1 Cálculo del título del factor del reactivo de Karl Fischer. Registre los resultados en la Tabla 1. Calcule el promedio y el CV entre las réplicas.

Tabla 1. Título del factor del reactivo de Karl Fischer con tartrato de sodio dihidratado

Peso de la nave con muestra (mg)	Peso de la nave vacía (mg)	Diferencia de peso (mg de muestra)	Volumen del reactivo de Karl-Fischer (mL)

Cálculos:

3.4.6.2 Cálculo del porcentaje de agua en la muestra. Registre los resultados en la Tabla 2. Calcule el promedio y el CV entre las réplicas.

Tabla 2. Porcentaje de agua en la muestra

Peso de la jeringa con muestra (mg)	Peso de la jeringa vacía (mg)	Diferencia de peso (mg de muestra)	Volumen del reactivo de Karl-Fischer (mL)

Nota: el porcentaje de agua se calcula en mg H₂O/100 mg de muestra (m/m).

Cálculos:

3.4.9 Dictamen:

3.5 Índice de Refracción

3.5.1 Fundamento El índice de refracción (n) de una sustancia es la relación que existe entre la velocidad de la luz en el aire y en la sustancia que se analiza. Se define también como la relación entre el seno del ángulo de incidencia de un haz de luz en el aire, y el seno del ángulo de dicho haz refractado en la sustancia en análisis.

El aparato debe estar calibrado de manera adecuada. La temperatura debe ajustarse y mantenerse durante el tiempo que requiera la prueba ya que, el índice de refracción, varía significativamente con la temperatura. La temperatura estándar en las determinaciones farmacopeicas es 25 °C, sin embargo, las especificaciones en las monografías individuales indican que es necesario calcular el valor del índice de refracción a 20 °C. Los valores del índice de refracción indicados en la Farmacopea mexicana son con referencia a la línea D de sodio ($\lambda = 589.3$ nm), por lo tanto, el símbolo es: n_D^{20} .

Para obtener el índice de refracción, se emplea un refractómetro que puede ser de Abbé, u otros de igual o mayor exactitud. Para alcanzar la exactitud técnica de ± 0.0001 , es necesario calibrar el instrumento con un patrón de referencia y verificar frecuentemente la limpieza y control de la temperatura del instrumento. La calibración se puede realizar con las siguientes sustancias:

Líquido de refracción	n_D^T	Temperatura
Agua destilada	1.3330	20°C
Agua destilada	1.3325	25°C
Monobromonaftaleno	1.6580	20°C

3.5.2 Procedimiento

- a) Ajustar la temperatura del aparato y de la muestra según se requiera. Si es necesario pasar por las mangueras del refractómetro agua fría o caliente para alcanzar la temperatura requerida.
- b) Verificar con agua destilada el índice de refracción a 20°C (1.3330).
- c) Preparar la muestra cómo se indica en la monografía correspondiente.
- d) Depositar una gota sobre la superficie del prisma de medición evitando que se formen burbujas. Obtener un mínimo de tres lecturas por muestra.
- e) Calcular el promedio. El promedio obtenido debe encontrarse dentro de los límites especificados en la monografía correspondiente (la diferencia entre cada lectura no es mayor que 0.0002).

3.5.3 Con base en la información proporcionada elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

Residuos generados
No aplica.

Resultados

3.5.4 Registre las características de los equipos/instrumentos empleados en la siguiente Tabla:

Equipo utilizado
Refractómetro de Abbé
Marca:

Materiales y reactivos

Cantidad	Material
2	Pipeta Pasteur
3	Vasos de precipitados de 250 mL
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos
Agua destilada
Etanol RA
Hielo
Muestra
Benzonatato

Criterios de aceptación: Entre 1.509 y 1.511. Determinar a 20°C.

En la siguiente tabla registre los valores de índice de refracción para cada réplica.

Determinación	Índice de refracción
1	
2	
3	
Promedio	

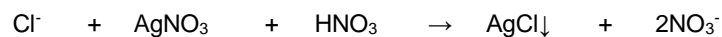
3.5.5 Dictamen:

3.5 Cloruros. MGA 0161.

3.5.1 Fundamento

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los cloruros presentes en una muestra dada con una solución de nitrato de plata, produciendo un precipitado de color blanco de cloruro de plata, el cual se compara visualmente contra el precipitado producido por una cantidad conocida de cloruros.

3.5.2 Reacción involucrada



3.5.3 Procedimiento. No más de 0.0035%.

Mezclar 20 mL de una solución 1:10 con un volumen igual de agua y 1 mL de ácido nítrico; agitar durante 60 min. Pasar por un filtro previamente lavado con agua hasta eliminar cloruros. La solución no contiene más cloruros que los correspondientes a 0.1 mL de SV de ácido clorhídrico. 0.02 N.

3.5.3.1 MGA 0161. Recomendaciones especiales:

- a. Utilizar los mismos volúmenes y reactivos para la solución de la muestra y para la solución de referencia.
- b. Cuando se acidula la solución y no queda perfectamente clara, filtrar a través de papel filtro que tenga reacción negativa a cloruros.
- c. Mezclar, dejar reposar y hacer las observaciones comparativas en un plano horizontal contra un fondo oscuro.
- d. Cuando la monografía individual del producto señale efectuar la prueba con un volumen especificado de solución o de sustancia y el límite para cloruros corresponda a 0.2 mL o menos de solución de ácido clorhídrico 0.020 N, la prueba se realiza con la solución sin diluir. En este caso se debe mantener la misma relación de volumen, tanto para la solución de referencia, como para la solución de la muestra.

3.5.3.2 MGA 0161. Procedimiento: En un tubo de Nessler disolver la cantidad de muestra especificada en la monografía respectiva, con 30 mL o 40 mL de agua; si la sustancia es una solución agregar el agua necesaria para obtener dichos volúmenes.

Neutralizar la solución con ácido nítrico, utilizando como indicador papel tornasol. En otro tubo de Nessler se prepara la solución de referencia que sirve de comparación, con la cantidad de solución de HCl 0.02 N especificada en la monografía respectiva y se adiciona agua a un volumen de 30 mL o 40 mL.

Agregar 1 mL de ácido nítrico y 1 mL de SR de nitrato de plata, tanto al tubo de muestra como al de referencia; enseguida agregar agua hasta 50 mL. Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos, protegidos de la luz. Observar y comparar que la turbidez producida por la muestra no sea mayor que la de la solución de referencia especificada en la monografía.

3.5.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco, en el Método General de Análisis y en las recomendaciones especiales elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Precipitado de cloruro de plata en medio ácido y exceso de AgNO_3	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Benzonatato con precipitado de cloruro de plata en medio ácido y exceso de AgNO_3	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.5.5 Material, reactivos y soluciones

Materiales y reactivos

Cantidad	Material
2	Tubo de Nessler
1	Nave de pesado
1	Espátula
2	Vasos de precipitados de 100 mL
1	Gradilla
2	Pipeta graduada de 10 mL
2	Pipeta graduada de 5 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Barra magnética
1	Embudo de filtración rápida
1	Anillo metálico
1	Parrilla de calentamiento con agitación

Reactivos
Agua destilada
Ácido nítrico RA

Soluciones
SR Nitrato de plata
SV de ácido clorhídrico 0.02 N

Muestra
Benzonatato

Materiales
Papel filtro Whatman No. 1

3.5.6 Preparación de reactivos

De acuerdo con lo establecido en el capítulo de soluciones volumétricas (FEUM, Duodécima edición) la solución de ácido clorhídrico 0.02 N se prepara por dilución cuantitativa a partir de una solución volumétrica de mayor concentración; para este caso en particular se prepara empleando una SV de HCl 0.1 N.

3.5.6.1 SV DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1 N o 0.1 M.

HCl

MM 36.46

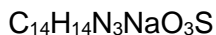
8.5 mL en 1 000mL

En un matraz volumétrico de 1 000 mL, depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.

Valorar la solución como se indica a continuación: disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro (secar previamente a 207 °C durante 1 h), en 20 mL de agua y mezclar hasta disolución completa, agregar 0.1 mL de SI anaranjado de metilo y titular con la solución de ácido clorhídrico hasta vire amarillo rojizo.

Calentar a ebullición durante 2 minutos, enfriar (estas observaciones ya no aparecen en las ediciones recientes de la farmacopea, sin embargo, son importantes para visualizar de forma correcta el punto final de la reacción) y continuar la titulación hasta que el color amarillo rojizo no desaparezca. Calcular la normalidad o molaridad considerando que cada mililitro de SV de ácido clorhídrico 0.1 N o 0.1 M es equivalente a 5.3 mg de Na₂CO₃ anhidro.

3.5.6.2 SI DE ANARANJADO DE METILO



MM 327.33

4-[[[(4-dimetilamino) fenil] azo] bencenosulfonato de sodio

Es un polvo amarillo-naranja. Poco soluble en agua fría, soluble en agua caliente, insoluble en alcohol. Cambia de color rosa a amarillo, en un intervalo de pH 3.2 a 4.4.

Preparación. Disolver 100 mg de anaranjado de metilo en 100 mL de agua y filtrar si es necesario.

3.5.6.3 Estandarización de la solución de ácido clorhídrico 0.1 N o 0.1 M

Para la estandarización de la solución, se deben considerar las siguientes recomendaciones:

- El procedimiento de valoración se realiza por triplicado.
- Cada pesada de carbonato de sodio anhidro debe realizarse considerando un $\pm 10\%$ de la cantidad indicada en el procedimiento.
- Para cada réplica se realiza el cálculo de normalidad y se informa con 5 cifras significativas.
- Una vez obtenidos los resultados de cada réplica calcular la media y el coeficiente de variación (CV). Para que el resultado de la estandarización sea confiable la precisión debe ser menor o igual al 0.2%, criterio FEUM.

3.5.6.4 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Probeta graduada de 50 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 25 ó 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Matraz volumétrico de 500 ó 1 000 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
1	Espátula
1	Nave de pesado
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos
Agua destilada
Carbonato de sodio anhidro RA (patrón primario)
Ácido clorhídrico RA
Anaranjado de metilo RA
Hielo

Soluciones
SI de anaranjado de metilo

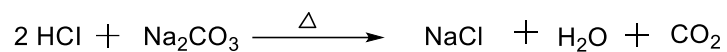
Resultados

3.5.6.5 En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos durante la estandarización de la SV de ácido clorhídrico 0.1 N.

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:

Masa del carbonato de sodio anhidro (mg) MM 106 g/mol	Volumen de ácido clorhídrico (mL) MM 36.5 g/mol

Reacción involucrada:



Cálculos:

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

3.5.6.6 SV DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.02 N

Una vez estandarizada la solución de ácido clorhídrico 0.1 N preparar 100 mL por dilución cuantitativa, la solución 0.02 N. Esta solución se prepara el día de uso, aplicando, la siguiente relación:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Cálculo de la dilución:

Comprobación de la concentración 0.020 N:

3.5.6.7 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Matraz volumétrico de 50 ó 100 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta

Reactivos

Agua destilada

Soluciones

SV ácido clorhídrico 0.1 N

Resultados

3.5.7 Registre los resultados obtenidos de la prueba límite de cloruros

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica:

Marca:

Número:

Masa de la muestra:

3.5.8 Observaciones:

3.5.9 Dictamen:

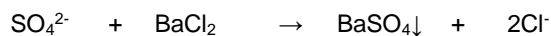
3.5.10 Ejercicio: Realice los cálculos para comprobar que el límite de cloruros corresponde a 0.0035%.

3.6 Prueba Límite de Sulfatos. *MGA 0861*

3.6.1 Fundamento

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los sulfatos presentes en una muestra dada con una solución de cloruro de bario produciendo un precipitado de color blanco de sulfato de bario, el cual se compara en forma visual contra el producido por una cantidad conocida de sulfatos.

3.6.2 Reacción involucrada



3.6.3 Procedimiento. No más de 0.04 %.

Mezclar 5 mL una solución 1:20 con un volumen igual de agua y 1 mL de solución de ácido clorhídrico 3 N, agitar durante 60 min y dejar reposar 60 min. Pasar por un filtro libre de sulfatos. La solución no contiene más sulfatos que los correspondientes a 0.10 mL de SV de ácido sulfúrico 0.02 N.

3.6.3.1 *MGA 0861*. Procedimiento. En un tubo de Nessler disolver la cantidad de muestra, indicada en la monografía del producto, con 30 mL o 40 mL de agua; si la sustancia es una solución agregar el agua necesaria para obtener dichos volúmenes.

Neutralizar la solución con ácido clorhídrico, utilizando papel tornasol como indicador. En otro tubo de Nessler preparar la solución de referencia con la cantidad de solución de H₂SO₄ 0.02 N especificada en la monografía y agua hasta un volumen de 30 mL o 40 mL.

Agregar 1 mL de solución de ácido clorhídrico 3 N, 3 mL de SR de cloruro de bario tanto al tubo de la muestra como al de referencia; enseguida agregar agua hasta 50 mL. Mezclar y dejarla reposar durante 10 minutos. Comparar que la turbidez producida por la muestra no sea mayor que la de la solución de referencia especificada en la monografía.

3.6.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco y en el Método General de Análisis elabore un diagrama de flujo que esquematice el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Precipitado de sulfato de bario en medio ácido y exceso de BaCl ₂ .	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Precipitado de sulfato de bario en medio ácido y exceso de BaCl ₂ .y Benzonatato.	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.6.5 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
2	Tubo de Nessler
1	Nave de pesado
1	Espátula
2	Vasos de precipitados de 100 mL
1	Gradilla
2	Pipeta graduada de 10 mL
2	Pipeta graduada de 5 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Barra magnética
1	Embudo de filtración rápida
1	Anillo metálico
1	Parrilla de calentamiento con agitación

Reactivos

Agua destilada

Ácido clorhídrico RA

Cloruro de bario RA

Soluciones

Ácido clorhídrico 3 N

SR cloruro de bario

SV ácido sulfúrico 0.02 N

Muestra

Benzonatato

Materiales

Papel filtro Whatman No. 1

3.6.6 Preparación de reactivos

La solución de ácido sulfúrico 0.02 N se preparará por dilución a partir de una SV de H₂SO₄ 0.1 N.

3.6.6.1 SV DE ÁCIDO SULFÚRICO 0.1 N

H₂SO₄

4.904 g en 1 000 mL

MM 98.07

En un matraz volumétrico de 1 000 mL conteniendo 500 mL de agua, agregar cuidadosamente y con agitación 3 mL de ácido sulfúrico, enfriar a 25 °C y llevar a volumen con agua.

Valorar la solución como se indica a continuación: disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro (secado previamente a 270 °C durante 1 h); en 50 mL de agua, añadir 0.1 mL de SI de anaranjado de metilo y titular con la solución de ácido sulfúrico hasta un vire amarillo-rojizo. Calentar a ebullición la solución durante 2 min, enfriar y si es necesario titular hasta que el color amarillo-rojizo no desaparezca. Calcular la normalidad considerando que cada mililitro de solución de ácido sulfúrico 0.1 N equivale a 5.299 mg de Na₂CO₃ anhidro.

3.6.6.2 SI DE ANARANJADO DE METILO. Ver inciso 3.5.6.2.

3.6.6.3 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Probeta graduada de 50 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 25 ó 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Matraz volumétrico de 500 ó 1 000 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
1	Espátula
3	Nave de pesado
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos

Agua destilada

Carbonato de sodio anhidro RA (patrón primario)

Ácido sulfúrico RA

Soluciones

SI de anaranjado de metilo

3.6.6.4 Estandarización de la solución de ácido sulfúrico 0.1 N o 0.05 M.

En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos de la estandarización.

Equipo/instrumento utilizado

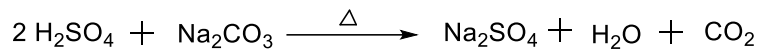
Balanza analítica

Marca:

Número:

Masa del carbonato de sodio anhidro (mg) MM 106 g/mol	Volumen de ácido sulfúrico (mL) MM 98.07g/mol

Reacción Involucrada:



Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Cálculos:

3.6.6.5 SV DE ÁCIDO SULFÚRICO 0.02 N

Una vez estandarizada la solución de ácido sulfúrico 0.1 N preparar, por dilución cuantitativa, la solución 0.02 N. Esta solución se prepara el día de uso aplicando, la siguiente relación:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Cálculo de la dilución:

Comprobación de la concentración 0.020 N

3.6.6.6 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Matraz volumétrico de 100 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta

Reactivos
Agua destilada

Soluciones
SV ácido sulfúrico 0.1 N

Resultados

3.6.7 En los siguientes espacios registre los resultados obtenidos de la prueba límite de sulfatos

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica:
Marca:
Número:
Masa de la muestra

3.6.8 Observaciones:

3.6.9 Dictamen:

3.6.10 Realice los cálculos para comprobar que el límite de sulfatos corresponde a 0.04%.

3.7 Valoración

3.7.1 Fundamento

Titulaciones residuales. En algunas titulaciones se requiere agregar un exceso de una solución volumétrica para reaccionar con la sustancia por valorar. Dicho exceso se titula con una segunda solución volumétrica, lo que constituye propiamente la titulación residual, que es conocida también como titulación por retroceso.

La cantidad de sustancia contenida en la solución muestra, se calcula tomando en cuenta:

- la diferencia entre el volumen de la solución volumétrica agregada previamente y el volumen de la segunda solución volumétrica, empleado, en la retrotitulación
- las normalidades de las dos soluciones volumétricas y
- el factor de equivalencia de la sustancia, dado en la monografía respectiva

Procedimiento. MGA 0991. Depositar en el matraz bola del aparato para reflujo 5 g de la muestra; agregar 25.0 mL de SV de hidróxido de sodio 0.5 N y calentar a reflujo durante 1 h. Enfriar; retirar el matraz del aparato y agregar 25 mL de agua y diez gotas de SI de azul de bromotimol. Titular el exceso de álcali con SV de ácido clorhídrico 0.5 N. Efectuar una prueba en blanco y hacer la corrección necesaria. Cada mililitro de SV de hidróxido de sodio 0.5 N, equivale a 301.5 mg de benzonatato.

3.7.2 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Indique los residuos generados.

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
	Hidróxido de sodio, ácido clorhídrico y azul de bromotimol	Solución neutra. Desechar en el drenaje con suficiente agua.
	Benzonatato, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico y azul de bromotimol	Solución neutra. Desechar en el drenaje con suficiente agua.

3.7.3 Preparación de reactivos

Como se deduce del procedimiento de valoración, el ensayo, requiere del empleo de dos soluciones volumétricas: hidróxido de sodio 0.5 N y ácido clorhídrico 0.5 N.

3.7.3.1 SV DE HCl 0.5 N

HCl MM 36.46 g/mol
36.46 g en 1 000 mL

En un matraz volumétrico de 1 000 mL, depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 42.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua. Valorar la solución como se indica a continuación: pesar 750 mg de carbonato de sodio (secar previamente a 270°C durante 1 h), añadir 100 mL de agua y mezclar hasta disolución completa, agregar 2 gotas SI de rojo de metilo y titular con la solución de ácido clorhídrico 0.5 N con agitación constante hasta color rosa pálido; repetir el paso de la solución no desaparezca al calentarla a ebullición durante 2 min. Calcular la normalidad considerando que cada mililitro de ácido clorhídrico 0.5 N es equivalente a 52.99 mg de Na₂CO₃ anhidro.

3.7.3.2 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Espátula
1	Nave de pesado
1	Parilla de calentamiento

Reactivos

Agua destilada
Carbonato de sodio anhidro RA (patrón primario)
Ácido clorhídrico RA

Soluciones

SI rojo de metilo

Resultados

3.7.3.3 En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos durante la estandarización de la solución.

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:

Masa del carbonato de sodio anhidro (mg) MM 106 g/mol	Volumen de HCl (mL) MM 36.46g/mol

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Reacción involucrada



Cálculos:

3.7.3.4 SV DE HIDRÓXIDO DE SODIO 0.5 N

NaOH
20 g en 1 000 mL

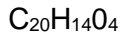
MM 40 g/mol

En un vaso de precipitados disolver 20 g de hidróxido de sodio con 150 mL de agua libre de dióxido de carbono, dejar enfriar la solución a temperatura ambiente, pasar a un matraz volumétrico de 1 000 mL y llevar a volumen con agua libre de dióxido de carbono.

Pesar 2.5 g de biftalato de potasio (previamente molido y secado a 120 °C durante 2 h) y pasarlos a un matraz Erlenmeyer, disolver en 75 mL de agua libre de dióxido de carbono, agregar 2 gotas de SI de fenolftaleína. Titular con la solución de hidróxido de sodio 0.5 N hasta vire color rosa claro permanente.

Calcular la normalidad o molaridad, considerando que cada mililitro de solución de hidróxido de sodio 0.5 N es equivalente a 102.1 mg de $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$.

3.7.3.5 SI DE FENOLFTALEÍNA



3,3-bis(4-hidroxifenil)-1(3H)-isobenzofuranona

MM 318.33

Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Insoluble en agua, soluble en etanol. Cambia de incolora a roja en un intervalo de pH 8.0 a pH 10.

Preparación. Disolver 1 g de fenolftaleína en 100 mL de alcohol.

3.7.3.6 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Espátula
3	Nave de pesado

Reactivos

Agua destilada

Biftalato de potasio RA

Hidróxido de sodio RA

Soluciones

SI de fenolftaleína

Resultados

3.7.3.7 En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos de la estandarización de la solución.

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

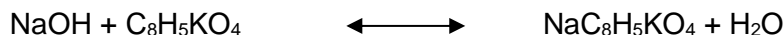
Marca:

Número:

Masa del biftalato de potasio (mg) MM 204.2 g/mol	Volumen de hidróxido de sodio (mL) MM 40 g/mol

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución de NaOH y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Reacción involucrada



Cálculos:

3.7.4.1 SI DE AZUL DE BROMOTIMOL

$C_{27}H_{28}Br_2O_5S$

MM 624.38

4,4'-(3H-2, 1,-benzoxatiol-3-ilideno) bis [2-bromo-3-metil-6(1-metil etil) fenol] azufre, dióxido

Polvo de color ligeramente amarillo, insoluble en agua, soluble en etanol y en soluciones alcalinas. Cambia de color amarillo a azul, en un intervalo de pH 6.0 a 7.6. Cambia de color amarillo en medio ligeramente ácido a azul en medio ligeramente alcalino, pasando por verde en el punto neutro.

Preparación. Disolver 100 mg de azul de bromotimol en 100 mL de alcohol al 50 %, filtrar si es necesario.

3.7.4.2 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
4	Matraz de bola, fondo plano con boca 24/40 de 250 mL
4	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
2	Probeta de 50 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pipeta graduada de 5 mL
1	Pinza para bureta
2	Vaso de precipitados de 100 mL
1	Vaso de precipitados de 250 mL
1	Equipo de reflujo
1	Manta de calentamiento
1	Bomba de agua
1	Reóstato

Reactivos

Agua destilada

Soluciones

SV de HCl 0.5 N

SV de NaOH 0.5 N
SI azul de bromotimol
Muestra
Benzonatato

Resultados

3.7.4.3 Registre las características de los equipos/instrumentos empleados.

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número

3.7.4.4 En la siguiente tabla registre los resultados obtenidos de la valoración. Con en estos resultados, calcule el porcentaje de fármaco en las muestras y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Determinación	Masa de la muestra (g)	Volumen de HCl 0.5 N
1		
2		
3		
Blanco		
		Promedio
		CV

Cálculos:

5 Bibliografía

- Benzonatato. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen II, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 1272.
- Generalidades: solubilidad. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 15.
- Soluciones volumétricas. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Secretaría de Salud, Volumen I, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 166-169, 175
- MGA 0041 (Determinación de agua por Karl Fischer); MGA 0111 (Arsénico), MGA 0161 (Límite de cloruros); MGA 0351 (Espectrofotometría infrarroja); MGA 0361 (Espectrofotometría visible y ultravioleta); MGA 0741 (Índice de refracción); MGA 0861 (Prueba límite de sulfatos); MGA 0991 (Volumetría). En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 265-268, 298-300, 303-304, 383-389, 389-393, 501-502, 507-508, 532-536.

CERTIFICADO DE ANÁLISIS

Producto:
 Número de lote:
 Proveedor:
 Fecha de recepción:

PRUEBA	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	DICTAMEN
Descripción	Líquido viscoso claro, de color amarillo		
Solubilidad en alcohol	Fácilmente soluble en alcohol, benceno y cloroformo; miscible con agua en todas proporciones		
Solubilidad en benceno			
Solubilidad en cloroformo			
Miscibilidad en agua			
Ensayos de Identidad			
Identificación A	El espectro IR de una película de la muestra de benzonatato, corresponde al obtenido con una preparación similar de la SRef-FEUM de benzonatato		
Identificación B	El espectro UV de una solución de la muestra que contienen 15 µg/mL corresponde al obtenido con una solución similar de la sustancia de referencia de benzonatato.		
Agua	La muestra no contiene más del 0.3 %		
Índice de Refracción	Entre 1.509 y 1.511. Determinar a 20°C.		
Prueba Límite de Cloruros	No más de 0.0035%.		
Prueba Límite de Sulfatos	No más de 0.04 %.		
Valoración		\bar{x} =	CV =
Nombre y firma del analista:		Aprobado por:	
		Fecha:	

Práctica 2

ANÁLISIS DE CARBONATO DE CALCIO

ANÁLISIS DEL FÁRMACO CARBONATO DE CALCIO

1 Objetivo general

Proporcionar al alumno los conocimientos prácticos que le permitan aplicar e interpretar de manera correcta los métodos farmacopeicos de mayor aplicación para el análisis de fármacos y aditivos

1.1 Objetivos particulares

- Aplicar los métodos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (Ediciones 9^a-12^a) para realizar las siguientes determinaciones: solubilidad, identidad, cloruros, sulfatos, metales pesados, hierro y valoración
- Realizar el trabajo experimental con el rigor científico necesario y cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio
- Verificar que los métodos descritos en el compendio farmacopeico son idóneos para analizar el fármaco
- Propiciar el desarrollo de habilidades y destrezas para realizar el análisis de un fármaco
- Fomentar la responsabilidad que conlleva el tratamiento, confinamiento y disposición de los residuos generados durante el análisis

2 Antecedentes

El calcio es un nutriente esencial y está involucrado en las funciones normales de nervios y músculos (incluido el corazón). Es necesario para la cascada de coagulación y es un componente esencial para la preservación del esqueleto y los dientes. La insuficiencia de calcio contribuye considerablemente con el desarrollo de la osteoporosis. Algunos estudios publicados indican que el consumo inadecuado de calcio, en las diferentes etapas de la vida, está relacionado con la disminución de la densidad ósea y con un alto índice de fracturas.

Normalmente, el calcio se obtiene a través del consumo de leche o productos lácteos; vegetales como el brócoli, la col y la coliflor y, algunos frutos secos (nueces). No obstante, puede suplementarse con la ingesta de insumos que contienen calcio como los suplementos alimenticios o los medicamentos vitamínicos. Algunos suplementos de calcio vienen combinados con vitaminas y otros minerales como la vitamina D y el magnesio.

Existen múltiples preparados comerciales que contienen principalmente carbonato o citrato de calcio. Otras sales de calcio comprenden el gluconato y el lactato.

El carbonato de calcio cuando se disuelve en el estómago actúa también como antiácido; de ahí que sea el ingrediente de varios antiácidos comerciales.

Defina los siguientes términos. Documente la bibliografía consultada.

Fármaco:

Bibliografía

Materia prima:

Bibliografía

Aditivo:

Bibliografía

Medicamento:

Bibliografía

3 Procedimiento experimental

Marbete del fármaco:

En la siguiente Tabla escriba la información relacionada con la muestra objeto de análisis:

Nombre de la muestra:	
Descripción:	
Tamaño de la muestra:	
Fecha de muestreo:	
Número de lote:	
Proveedor:	
Fecha de caducidad:	
Especificaciones para el análisis:	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
Condiciones de almacenamiento:	

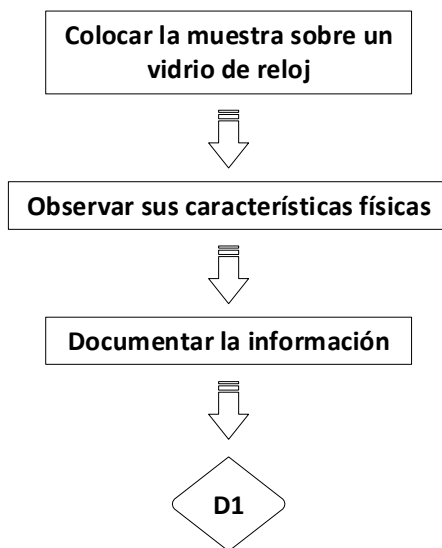
3.1 Descripción (FEUM, 12ª edición)

Polvo fino, microcristalino blanco.

3.1.1 Procedimiento

Colocar en un vidrio de reloj una pequeña cantidad de muestra. Registrar las características físicas observadas.

3.1.2 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento. Identifique los residuos generados.



Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Carbonato de calcio	Colocar en una bolsa para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.1.3. Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Espátula
1	Vidrio de reloj

Resultados

3.1.4 Escriba las características físicas de la muestra objeto de análisis

3.1.5 Dictamen

3.2 Solubilidad

Se disuelve con efervescencia en ácido acético 1 N, ácido clorhídrico 3 N y ácido nítrico 2 N; casi insoluble en agua, alcohol y éter dietílico.

3.2.1 Fundamento

Siempre que se menciona a la solubilidad debe entenderse que es el grado de disolución de un polvo en un disolvente, a la temperatura de 25°C durante 30 minutos, con agitación vigorosa de 30 s en intervalos de 5 min. Esta propiedad se evaluará de acuerdo con los términos señalados en la FEUM 12ª edición.

3.2.2 Realice un análisis comparativo entre los términos de solubilidad descritos en las ediciones 9ª, 10ª y 12ª de la FEUM. Documente la información en la Tabla 1.

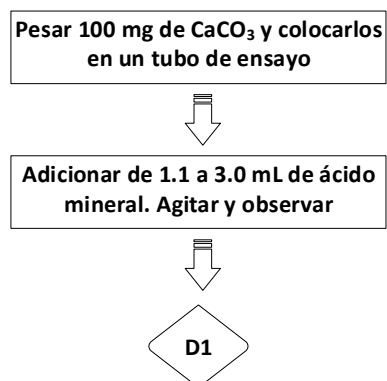
Tabla 1. Términos de solubilidad

	FEUM, Novena Edición	FEUM, Décima Edición	FEUM, Duodécima Edición
TÉRMINOS	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto
Muy soluble	Menos de una parte	Menos de una parte	Menos de una parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes
Soluble	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes
Ligeramente soluble	De 101 a 1 000 partes	De 31 a 100 partes	De 31 a 100 partes
Poco soluble	De 31 a 100 partes	De 101 a 1 000 partes	De 101 a 1 000 partes
Muy poco soluble	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes
Casi insoluble	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes

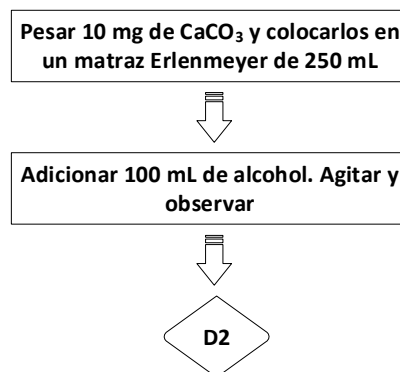
3.2.3 Procedimiento. Pesar, por separado, 4 masas de carbonato de calcio y disolverlas con ácido acético 1 N, ácido clorhídrico 3 N, ácido nítrico 2 N, agua, alcohol y éter dietílico en las proporciones indicadas en la FEUM, 9ª edición.

3.2.4 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento de solubilidad. Identifique los residuos generados.

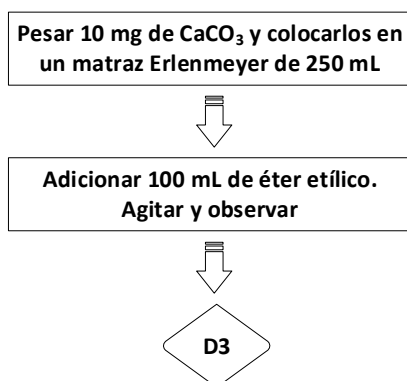
Solubilidad en ácido mineral



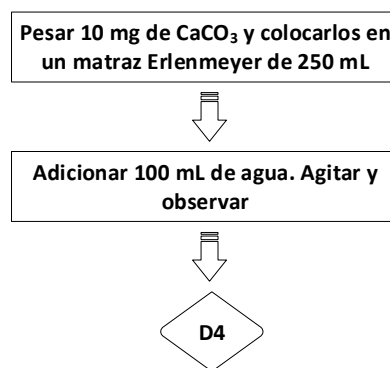
Solubilidad en alcohol



Solubilidad en éter etílico



Solubilidad en agua



Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Carbonato de calcio y ácido mineral	La solución se neutraliza y se desecha en el drenaje.
D2	Carbonato de calcio y alcohol	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D3	Carbonato de calcio y éter etílico	Colocar en una bolsa para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D4	Carbonato de calcio y agua	La solución se neutraliza y desecha en el drenaje.

3.2.5 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Tubo de ensayo de 16 x 150 o vaso de precipitados de 100 mL (según la muestra que se utilice para realizar la determinación)
4	Probeta graduada de 100 mL
1	Pipeta graduada de 5 mL
1	Gradilla
1	Espátula
4	Nave de pesado
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
3	Barras magnéticas
3	Parrilla de calentamiento/agitación

Reactivos

Ácido acético 1 N

Ácido clorhídrico 3 N

Ácido nítrico 2 N

Agua destilada

Alcohol RA

Éter etílico RA

Muestra

Carbonato de calcio

Resultados

3.2.6 Registre los resultados obtenidos en las siguientes Tablas:

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

Marca:

Número:

Término de solubilidad	Masa de (g) CaCO ₃	Disolvente	mL (utilizados)	Dictamen

3.3 Ensayos de Identidad A y B

3.3.1 Fundamento

Los ensayos de identidad en cada monografía están destinados a verificar que la sustancia que se analiza corresponde con la indicada en el marbete (USP). La prueba de identidad B, para este caso particular, está basada en la identificación del calcio por una reacción cualitativa de precipitación.

3.3.2 Ensayo de identidad A

La adición de ácido acético (RA) produce efervescencia debido a la presencia de carbonato.

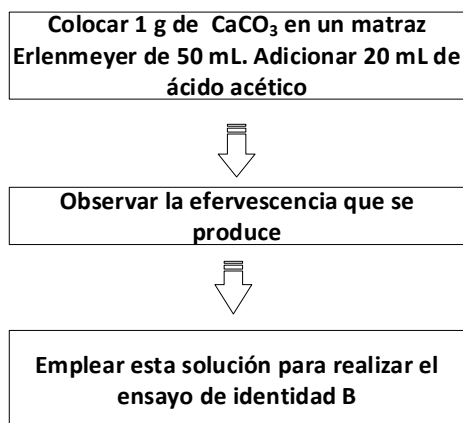
3.3.2.1 Procedimiento

Colocar 1 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y agregar 20 mL de ácido acético. Observar la efervescencia que se produce.

Reacción involucrada:



3.3.2.2 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento del ensayo de identidad A. Identifique los residuos generados.



Residuos generados:

La solución, en su totalidad, se utiliza para realizar el ensayo de identidad B.

3.3.2.3 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Matraz Erlenmeyer de 50 mL
1	Probeta graduada de 25 mL
1	Espátula
1	Nave de pesado

Reactivos

Ácido acético RA

Muestra

Carbonato de calcio

Resultados

3.3.2.4 Registre los resultados obtenidos en los espacios designados:

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

Marca:

Número:

Masa de la muestra:

3.3.2.5 Observaciones:

3.3.2.6 Dictamen:

3.3.3 Ensayo de identidad B

3.3.3.1 Procedimiento *MGA 0511*

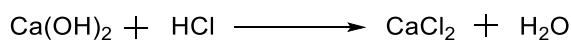
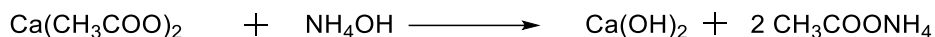
La solución obtenida en el Ensayo de identidad A, después de ebullición, da reacción positiva a las pruebas de identidad para calcio.

MGA 0511. Identificación de iones, grupos funcionales y radicales

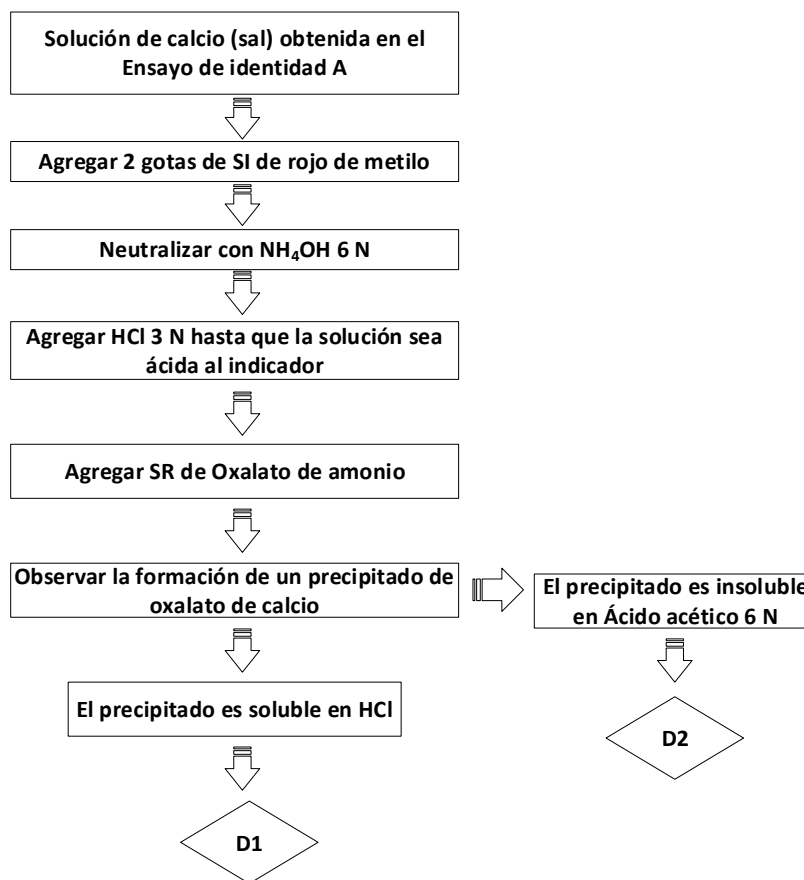
Recomendaciones especiales. Las soluciones volumétricas (SV), soluciones indicadoras (SI) y soluciones reactivo (SR), se preparan como se indica en el capítulo de Soluciones y Reactivos de la FEUM, 12ª Edición.

CALCIO. A una solución de sal de calcio (1:20), agregar dos gotas de SI de rojo de metilo; neutralizar con solución de hidróxido de amonio 6 N; agregar solución de ácido clorhídrico 3 N, gota a gota, hasta que la solución sea ácida al indicador; agregar SR de oxalato de amonio. Se forma un precipitado blanco de oxalato de calcio insoluble en solución de ácido acético 6 N, soluble en ácido clorhídrico. Las sales de calcio, humedecidas con ácido clorhídrico, imparten color rojo amarillento a la flama no luminosa.

Reacciones involucradas:



3.3.3.2 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento del ensayo de identidad B. Identifique los residuos generados.



Residuos generados

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Cloruro de calcio y acetato de amonio	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Oxalato de calcio y ácido acético	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.3.3.3 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
5	Pipeta Pasteur
2	Tubo de ensayo 16x150
1	Gradilla

Reactivos

Rojo de metilo RA
 Oxalato de amonio RA
 Hidróxido de amonio RA
 Ácido clorhídrico RA

Soluciones

Hidróxido de amonio 6 N
 Ácido acético 6 N
 Ácido clorhídrico 3 N
 SR Oxalato de amonio
 SI Rojo de metilo

Muestra

Carbonato de calcio

Resultados

3.3.3.4 Registre los resultados obtenidos en los espacios designados:

Especificación	Resultado	Dictamen
Precipitado de oxalato de calcio		
Precipitado de oxalato de calcio soluble en ácido clorhídrico		
Precipitado de oxalato de calcio insoluble en ácido acético 6 N		
Sales de calcio humedecidas con ácido clorhídrico producen un color rojo-amarillo a la flama no luminosa		

3.3.3.5 Observaciones:

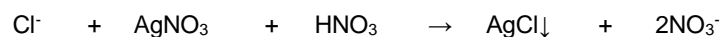
3.3.3.6 Dictamen:

3.4 Prueba Límite de Cloruros

3.4.1 Fundamento

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los cloruros presentes en una muestra dada con una solución de nitrato de plata, produciendo un precipitado de color blanco de cloruro de plata, el cual se compara visualmente contra el producido por una cantidad conocida de cloruros.

3.4.2 Reacción involucrada



3.4.3 Procedimiento. **MGA 0161.** No más de 0.03%.

Disolver 5.0 g de muestra en 80 mL de solución de ácido acético diluido. Cuando la efervescencia termine, calentar la solución a ebullición durante 2 min, enfriar, diluir a 100 mL con solución de ácido acético diluido y filtrar si es necesario, a través de vidrio sinterizado de poro fino. Utilizar 3 mL de la solución anterior y diluir a 15 mL con agua. La solución no contiene más cloruros que los correspondientes a 0.1 mL de SV de ácido clorhídrico 0.02 N.

3.4.3.1 MGA 0161. Recomendaciones especiales:

- Utilizar los mismos volúmenes y reactivos para la solución de la muestra y para la solución de referencia.
- Cuando se acidula la solución y no queda perfectamente clara, filtrar a través de papel filtro que tenga reacción negativa a cloruros.
- Mezclar, dejar reposar y hacer las observaciones comparativas en un plano horizontal contra un fondo oscuro y una fuente de luz directa a los lados del tubo.
- Cuando la monografía individual del producto señale efectuar la prueba con un volumen especificado de solución o de sustancia y el límite para cloruros

corresponda a 0.2 mL o menos de solución de ácido clorhídrico 0.020 N, la prueba se realiza con la solución sin diluir. En este caso se debe mantener la misma relación de volumen, tanto para la solución de referencia, como para la solución de la muestra.

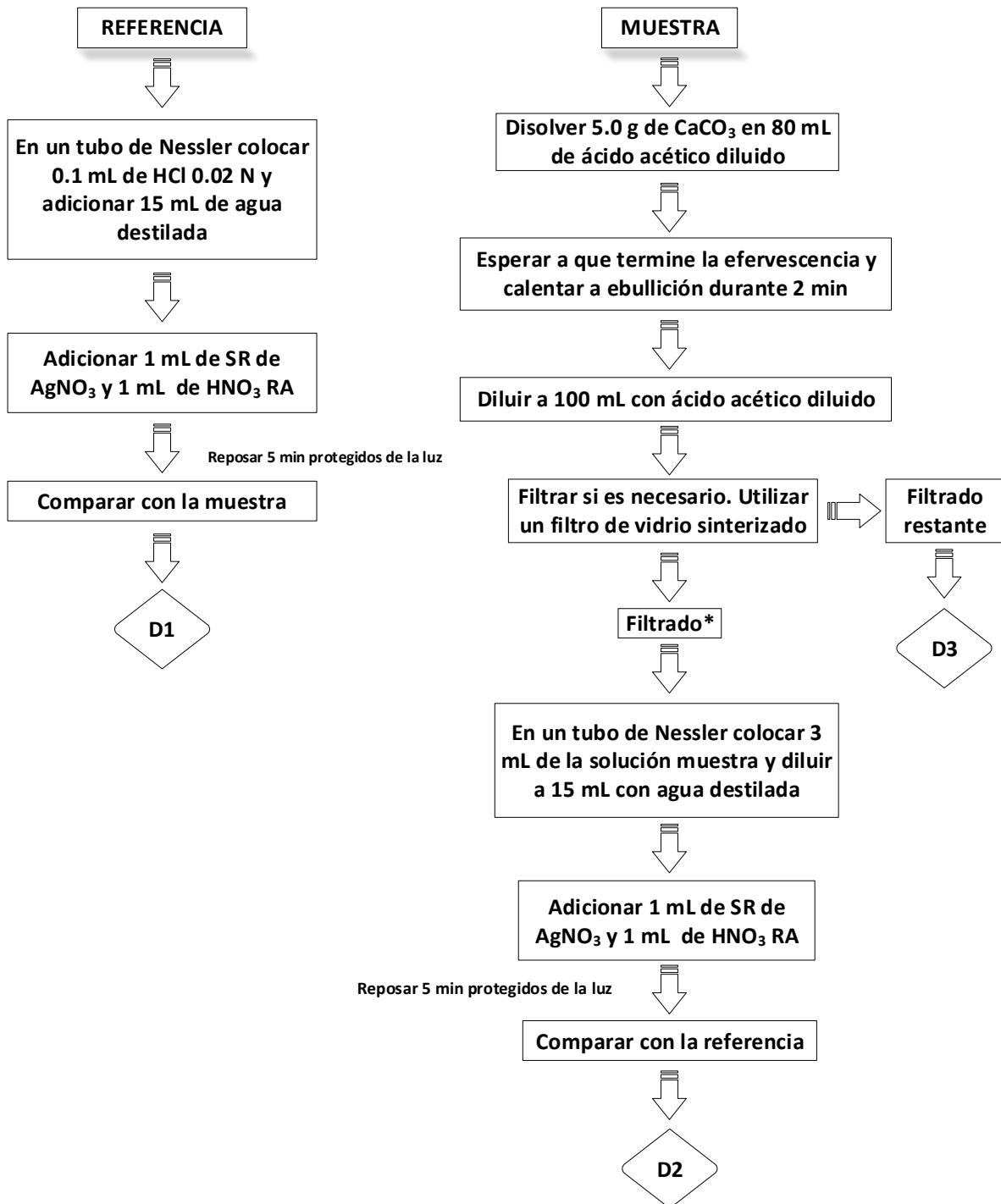
3.4.3.2 Procedimiento. MGA 0161

En un tubo de Nessler disolver la cantidad de muestra especificada en la monografía respectiva, con 30 mL o 40 mL de agua; si la sustancia es una solución agregar el agua necesaria para obtener dichos volúmenes.

Neutralizar la solución con ácido nítrico, utilizando como indicador papel tornasol. En otro tubo de Nessler se prepara la solución de referencia que sirve de comparación, con la cantidad de solución de HCl 0.02 N especificada en la monografía respectiva y se adiciona agua a un volumen de 30 mL o 40 mL.

Agregar 1 mL de ácido nítrico y 1 mL de SR de nitrato de plata, tanto al tubo de muestra como al de referencia; enseguida agregar agua hasta 50 mL. Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos, protegidos de la luz. Observar y comparar que la turbidez producida por la muestra no sea mayor que la de la solución de referencia especificada en la monografía.

3.4.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco y en el Método General de Análisis elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.



*Guardar 1.5 mL del filtrado para realizar la prueba de sulfatos.

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Precipitado de cloruro de plata en medio ácido y exceso de AgNO_3	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Precipitado de cloruro de plata en medio ácido y exceso de AgNO_3	Reunir con D1.
D3	Acetato de calcio en medio ácido	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.4.5 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
2	Tubo de Nessler
2	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Probeta graduada de 100 mL
1	Matraz volumétrico 100 mL
1	Pipeta volumétrica de 3 mL
1	Embudo de vidrio sinterizado
2	Pipeta graduada de 2 mL
1	Anillo metálico
1	Gradilla
2	Vaso de precipitados de 100 mL
1	Espátula
1	Nave de pesado
1	Parrilla de calentamiento
	Perlas de ebullición

Reactivos
Agua destilada
Ácido nítrico RA
Ácido acético RA

Soluciones
SR Nitrato de plata
SV de ácido clorhídrico 0.02 N
Ácido acético diluido

Muestra
Carbonato de calcio

3.4.6 Preparación de reactivos

De acuerdo con lo establecido en el capítulo de soluciones volumétricas (FEUM, Duodécima edición) la solución de ácido clorhídrico 0.02 N se prepara por dilución cuantitativa a partir de una solución volumétrica de mayor concentración; en este caso en particular se prepara empleando una SV de HCl 0.1 N.

3.4.6.1 SV DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1 N o 0.1 M.

HCl

MM 36.46

8.5 mL en 1 000mL

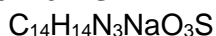
En un matraz volumétrico de 1 000mL, depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.

Valorar la solución como se indica a continuación: disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro (secar previamente a 270 °C durante 1 h), en 20 mL de agua y mezclar hasta

disolución completa, agregar 0.1 mL de SI anaranjado de metilo y titular con la solución de ácido clorhídrico hasta vire amarillo rojizo.

Calentar a ebullición durante 2 minutos, enfriar (estas observaciones ya no aparecen en las ediciones recientes de la farmacopea, sin embargo, son importantes para visualizar de forma correcta el punto final de la reacción) y continuar la titulación hasta que el color amarillo rojizo no desaparezca. Calcular la normalidad o molaridad considerando que cada mililitro de SV de ácido clorhídrico 0.1 N ó 0.1 M es equivalente a 5.3 mg de Na₂CO₃ anhidro.

3.4.6.2 SI DE ANARANJADO DE METILO



MM 327.33

4-[[[(4-dimetilamino)fenil]azo]bencenosulfonato de sodio

Es un polvo amarillo-naranja. Poco soluble en agua fría, soluble en agua caliente, insoluble en alcohol. Cambia de color rosa a amarillo, en un intervalo de pH 3.2 a 4.4.

Preparación. Disolver 100 mg de anaranjado de metilo en 100mL de agua y filtrar si es necesario.

3.4.6.3 Estandarización de la solución de ácido clorhídrico 0.1 N o 0.1 M

Para la estandarización de la solución, se deben considerar las siguientes recomendaciones:

- El procedimiento de valoración se realiza por triplicado.
- Cada pesada de carbonato de sodio anhidro debe realizarse considerando un $\pm 10\%$ de la cantidad indicada en el procedimiento.
- Para cada réplica se realiza el cálculo de normalidad y se informa con 5 cifras significativas.
- Una vez obtenidos los resultados de cada réplica calcular la media y el coeficiente de variación (CV). Para que el resultado de la estandarización sea confiable la precisión debe ser menor o igual al 0.2%, criterio FEUM.

3.4.6.4 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Probeta graduada de 50 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 25 ó 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Matraz volumétrico de 500 ó 1 000 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
1	Espátula
3	Nave de pesado
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos

Agua destilada

Carbonato de sodio anhidro RA (patrón primario)

Ácido clorhídrico RA

Anaranjado de metilo RA

Soluciones

SI de anaranjado de metilo

SV HCl 0.1 N

Resultados

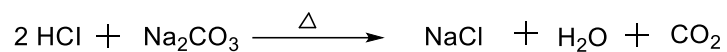
3.4.6.5 En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos de la estandarización de la SV de ácido clorhídrico 0.1 N.

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:

Masa del carbonato de sodio anhidro (g) MM 106 g/mol	Volumen de ácido clorhídrico (mL) MM 36.5 g/mol

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Reacción involucrada:



Cálculos:

3.4.6.6 SV DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.02 N

Una vez estandarizada la solución de ácido clorhídrico 0.1 N preparar, por dilución cuantitativa, la solución 0.02 N. Esta solución se prepara el día de uso, aplicando, la siguiente relación:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Cálculo de la dilución:

Comprobación de la concentración 0.020 N

3.4.6.7 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Matraz volumétrico de 50 ó 100 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta

Reactivos

Agua destilada

Soluciones

SV ácido clorhídrico 0.1 N

Resultados

3.4.7 Registre los resultados obtenidos de la prueba límite de cloruros

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

Marca:

Número:

Masa de la muestra:

3.4.8 Observaciones

3.4.9 Dictamen:

3.4.10 Realice los cálculos para comprobar que el límite de cloruros corresponde al 0.03 %

3.5 Prueba Límite de Sulfatos

3.5.1 Fundamento

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los sulfatos presentes en una muestra dada con una solución de cloruro de bario produciendo un precipitado de color blanco de sulfato de bario, el cual se compara en forma visual contra el producido por una cantidad conocida de sulfatos.

3.5.2 Reacción involucrada



3.5.3 Procedimiento. No más de 0.25 %.

Utilizar 1.5 mL de la preparación de la muestra obtenida en la prueba de *Cloruros* y diluir a 15 mL con agua. La solución no contiene más sulfatos que los correspondientes a 0.2 mL de SV de ácido sulfúrico 0.02N.

3.5.3.1 MGA 0861. Recomendaciones especiales.

Consultar el inciso 3.4.3.1.

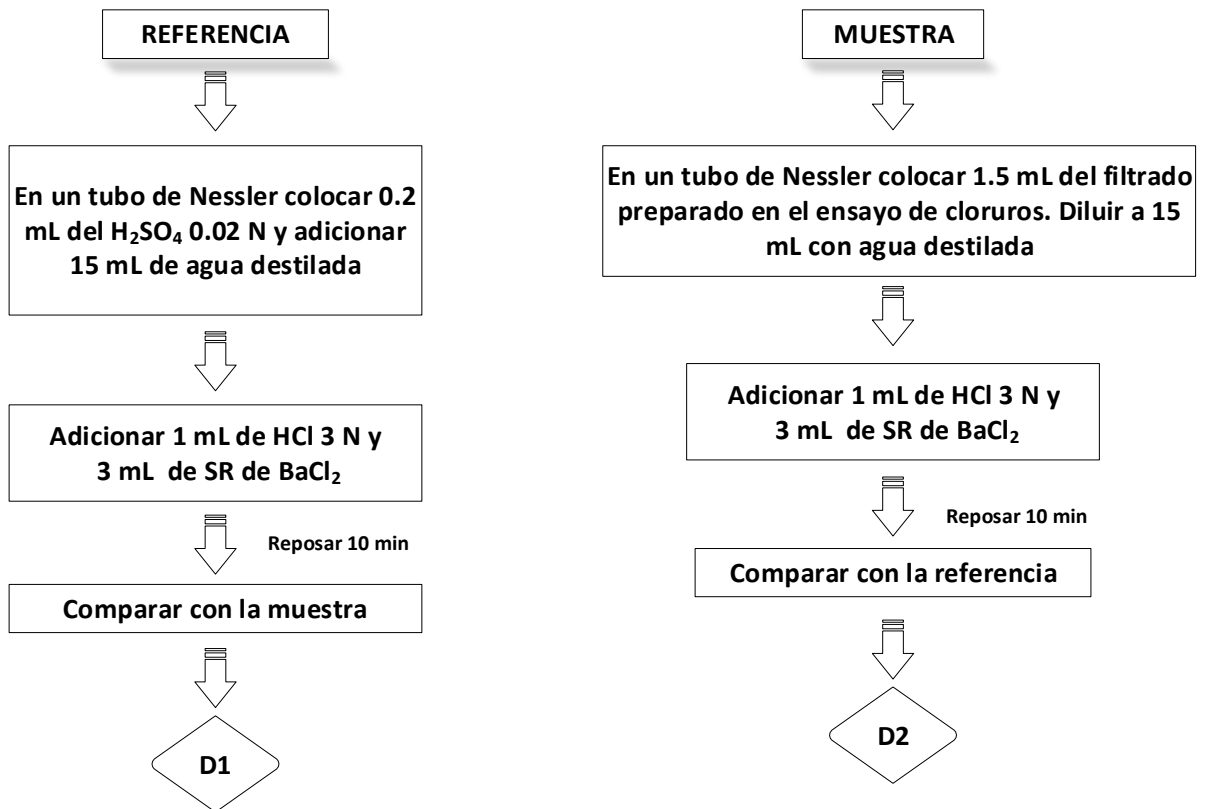
3.5.3.2 Procedimiento. MGA 0861

En un tubo de Nessler disolver la cantidad de muestra, indicada en la monografía del producto, con 30 mL o 40 mL de agua; si la sustancia es una solución agregar el agua necesaria para obtener dichos volúmenes.

Neutralizar la solución con ácido clorhídrico, utilizando papel tornasol como indicador. En otro tubo de Nessler preparar la solución de referencia con la cantidad de solución de H₂SO₄ 0.02 N especificada en la monografía y agua hasta un volumen de 30 mL o 40 mL.

Agregar 1 mL de solución de ácido clorhídrico 3 N, 3 mL de SR de cloruro de bario tanto al tubo de la muestra como al de referencia; enseguida agregar agua hasta 50 mL. Mezclar y dejarla reposar durante 10 minutos. Comparar que la turbidez producida por la muestra no sea mayor que la de la solución de referencia especificada en la monografía.

3.5.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco y en el Método General de Análisis elabore un diagrama de flujo que esquematice el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.



Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Precipitado de sulfato de bario en medio ácido y exceso de BaCl ₂ .	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Precipitado de sulfato de bario en medio ácido y exceso de BaCl ₂ .	Reunir con D1.

3.5.5 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
2	Tubo de Nessler
1	Probeta graduada de 25 mL
1	Pipeta graduada de 5 mL
1	Pipeta graduada de 2 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL

Reactivos

Agua destilada

Ácido clorhídrico RA

Cloruro de bario RA

Soluciones

Ácido clorhídrico 3 N

SR cloruro de bario

SV ácido sulfúrico 0.02 N

Muestra

Filtrado de la muestra de cloruros

3.5.6 Preparación de reactivos

La solución de ácido sulfúrico 0.02 N se preparará por dilución a partir de una SV de H₂SO₄ 0.1 N.

3.5.6.1 SV DE ÁCIDO SULFÚRICO 0.1 N o 0.05 MH₂SO₄

MM 98.07

4.904 g en 1 000 mL

En un matraz volumétrico de 1 000 mL conteniendo 500 mL de agua, agregar cuidadosamente y con agitación 3 mL de ácido sulfúrico, enfriar a 25 °C y llevar a volumen con agua.

Valorar la solución como se indica a continuación: disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro (secado previamente a 270 °C durante 1 h); en 50 mL de agua, añadir 0.1 mL de SI de anaranjado de metilo y titular con la solución de ácido sulfúrico hasta un vire amarillo-rojizo. Calentar a ebullición la solución durante 2 min, enfriar y si es necesario titular hasta que el color amarillo-rojizo no desaparezca. Calcular la normalidad o molaridad considerando que cada mililitro de solución de ácido sulfúrico 0.1 N o 0.05 M equivale a 5.299 mg de Na₂CO₃ anhidro.

3.5.6.2 SI DE ANARANJADO DE METILO. Ver inciso 3.4.6.2**3.5.6.3 Material, reactivos y soluciones**

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Probeta graduada de 50 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 25 ó 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Matraz volumétrico de 500 ó 1 000 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
1	Espátula
3	Nave de pesado
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos

Agua destilada

Carbonato de sodio anhidro RA (patrón primario)

Ácido sulfúrico RA

Soluciones

SI de anaranjado de metilo

SV H₂SO₄ 0.1 N**3.5.6.4 Estandarización de la solución de ácido sulfúrico 0.1 N o 0.05 M.**

En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos de la estandarización.

Equipo/instrumento utilizado

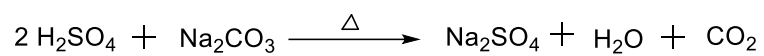
Balanza analítica

Marca:**Número:**

Masa del carbonato de sodio anhidro (g) MM 106 g/mol	Volumen de ácido sulfúrico (mL) MM 98.07 g/mol

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Reacción Involucrada:



Cálculos:

3.5.6.5 SV DE ÁCIDO SULFÚRICO 0.02 N

Una vez estandarizada la solución de ácido sulfúrico 0.1 N preparar, por dilución cuantitativa, la solución 0.02 N. Esta solución se prepara el día de uso aplicando, la siguiente relación:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Cálculo de la dilución:

Comprobación de la concentración 0.020 N

3.5.6.6 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Matraz volumétrico de 100 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta

Reactivos

Agua destilada

Soluciones

SV ácido sulfúrico 0.1 N

Resultados

3.5.7 En los siguientes espacios registre los resultados obtenidos de la prueba límite de sulfatos

3.5.8 Observaciones:

3.5.9 Dictamen:

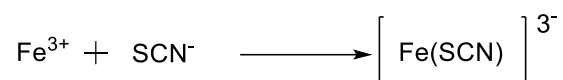
3.5.10 Ejercicio. Realice los cálculos para comprobar que el límite de sulfatos corresponde a 0.25%.

3.6 Prueba Límite de Hierro

3.6.1 Fundamento

Esta prueba está diseñada para demostrar el contenido de hierro tanto en su forma férrica como ferrosa; las cantidades encontradas no exceden el límite para hierro especificado en la monografía individual. Se basa en la reacción química colorida que ocurre, entre el hierro contenido en la sustancia que se analiza y una solución de tiocianato de amonio, bajo condiciones establecidas. La determinación se realiza por comparación visual de la preparación de la muestra con una solución de control preparada a partir de una solución de referencia de hierro.

3.6.2 Reacción involucrada:



3.6.3 Procedimiento. *MGA 0451*. No más de 0.1 %.

Solución muestra: 40 mg en 5 mL de ácido clorhídrico 2 N. Transferir a un vaso de precipitados con la ayuda de agua y diluir hasta 10 mL con el mismo disolvente.

Solución estándar: transferir 4.0 mL de *Solución estándar* de hierro a un vaso de precipitados y diluir con agua hasta 10 mL.

Análisis: agregar por separado a la *Solución muestra* y a la *Solución estándar* 2 mL de solución de ácido cítrico (1 en 5) y 2 gotas de ácido tioglicólico; ajustar con SR de amoniaco a un pH 9.5 ± 0.1 . Diluir con agua hasta 20 mL y dejar en reposo durante 5 minutos. Diluir con agua hasta 50 mL. Determinar concomitantemente las absorbancias de las soluciones muestra y estándar.

Condiciones instrumentales

Longitud de onda analítica: 530 nm

Blanco: agua

3.6.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco y en el Método General de Análisis elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Carbonato de calcio, sulfato férrico amónico, ácido cítrico y ácido tioglicólico en medio básico	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Carbonato de calcio, sulfato férrico amónico, ácido cítrico y ácido tioglicólico en medio básico	Reunir con D1.

3.6.5 Reactivos especiales

Preparación de referencia de hierro concentrada

Disolver 863.4 mg de sulfato férrico de amonio $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}]$ en agua, agregar 10 mL de solución de ácido sulfúrico 2 N y diluir con agua a 100 mL. Tomar una alícuota de 10 mL de esta solución, colocar en un matraz volumétrico de 1 000 mL, agregar 10 mL de solución de ácido sulfúrico 2 N, diluir con agua hasta llevar al aforo y mezclar. Esta solución contiene el equivalente a 0.01 mg/mL (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de hierro.

Solución de tiocianato de amonio. Pesar 30 g de tiocianato de amonio, pasar a un matraz volumétrico de 100 mL y llevar al aforo con agua.

3.6.6 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Probeta graduada de 10 mL
1	Pipeta volumétrica 4 mL
2	Pipeta graduada de 5 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
2	Matraz volumétrico 50 mL
1	Vaso de precipitados de 250 mL
1	Nave de pesado
1	Espátula

Reactivos

Ácido clorhídrico RA

Ácido sulfúrico RA

Ácido cítrico RA

Hidróxido de amonio RA

Ácido tioglicólico

Sulfato férrico amónico

Soluciones

Solución de referencia de hierro concentrada

Ácido clorhídrico 2 N

Ácido sulfúrico 2 N

Solución de ácido cítrico (1 en 5)

Muestra

Carbonato de calcio

Resultados

3.6.6 Registre los resultados obtenidos de la prueba límite de hierro

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

Marca:

Número:

Espectrofotómetro

Marca:

Número:

Masa de la muestra:

Absorbancia de la muestra:

Absorbancia de la referencia:

3.6.7 Observaciones:

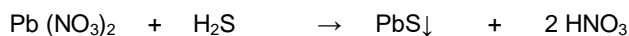
3.6.8 Dictamen:

3.6.9 Ejercicio: realice los cálculos para comprobar que el límite de hierro corresponde a 0.1 %.

3.7 METALES PESADOS. *MGA 0561*.

3.7.1 Fundamento Esta prueba se utiliza para determinar el contenido de impurezas metálicas que son coloreadas por el ion sulfuro, bajo las condiciones aquí especificadas. La determinación se realiza por comparación visual de la muestra con un control preparado a partir de una solución estándar de plomo. El contenido de impurezas metálicas no deberá exceder el límite de metales pesados especificado en la monografía individual, en función del porcentaje (en peso) de plomo.

3.7.2 Reacción involucrada



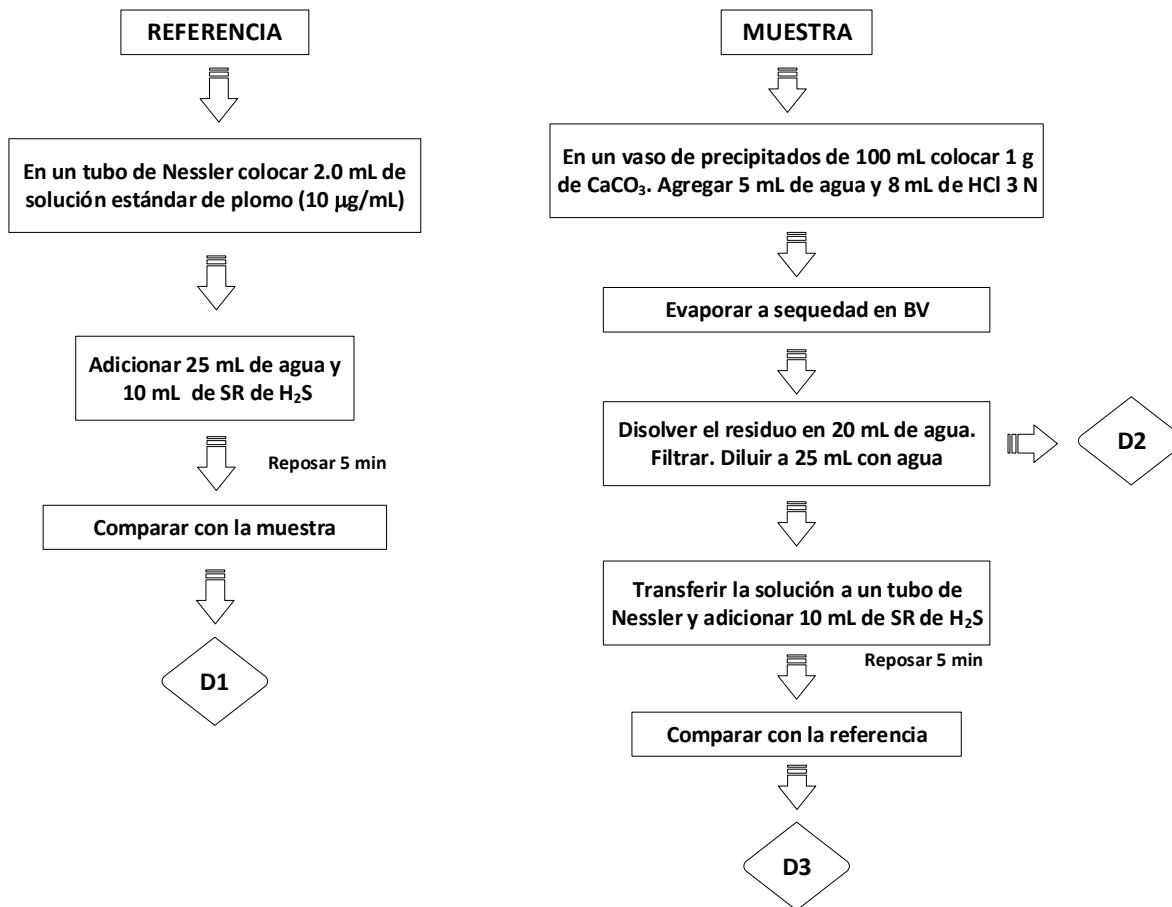
3.7.3 Procedimiento. *MGA 0561, Método I*. No más de 20 ppm.

Mezclar 1 g de la muestra con 5 mL de agua, lentamente agregar 8 mL de solución de ácido clorhídrico 3 N y evaporar en BV a sequedad. Disolver el residuo en 20 mL de agua, filtrar, llevar a un volumen de 25 mL con agua.

3.7.3.1 *MGA 0561*. El método I se emplea para sustancias que dan preparaciones transparentes e incoloras bajo las condiciones específicas de la prueba.

Para esta determinación los detalles se encuentran descritos en la monografía. Por lo tanto, el *MGA 0561* únicamente se considerará para preparar los reactivos especiales.

3.7.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental empleando SR de H_2S . Identifique los residuos generados.



Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	PbS	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos
D2	PbS, Cloruro de calcio,	Reunir con D1
D3	Papel filtro con residuos	Colocar en una bolsa para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos

3.7.5 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental empleando SR de tioacetamida glicerina base. Identifique los residuos generados.

3.7.6 Material, reactivos y soluciones

Si la determinación se realiza con SR de H₂S el material y los reactivos son los siguientes:

Cantidad	Material
2	Tubo de Nessler
1	Vaso de precipitados de 100 mL
1	Pipeta graduada de 5 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
1	Probeta graduada de 25 mL
	Embudo de filtración rápida
1	Matraz Erlenmeyer de 125 mL
2	Matraz Erlenmeyer de 500 mL
1	Tubo de vidrio doblado con 2 tapones de goma en los extremos
1	Mortero
1	Nave de pesado
1	Espátula
1	Gradilla
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos
Agua destilada
Pirita
Ácido clorhídrico RA
Nitrato de plomo RA

Soluciones
Solución estándar de plomo
Agua sulfhidrada (SR de H ₂ S)

Muestra
CaCO ₃

Si la determinación se realiza con SR de tioacetamida glicerina base el material y los reactivos son los siguientes:

Cantidad	Material
3	Tubo de Nessler
1	Probeta graduada de 25 mL
1	Pipeta volumétrica de 2 mL
6	Tubo de ensayo 16 x 150
2	Pipeta graduada de 1 mL
2	Pipeta graduada de 5 mL
1	Vaso de precipitados de 250 mL
1	Nave de pesado
1	Espátula
1	Gradilla
1	Parrilla de calentamiento
2	Pinza para tubo de ensayo

Reactivos
Agua destilada
Acetona RA
Ácido clorhídrico RA
Nitrato de plomo RA
Acetato de amonio RA
Glicerina RA
Hidróxido de sodio RA

Tioacetamida RA
Soluciones
Solución estándar de plomo
Ácido clorhídrico 6 N
SR de hidróxido de sodio
SR tioacetamida
SA acetato de amonio pH 3.5
Muestra
CaCO ₃
Otros materiales
Perlas de ebullición

3.7.7. Reactivos especiales

3.7.7.1 Solución amortiguadora de acetato de amonio pH 3.5.

Disolver 25.0 g de acetato de amonio en 25 mL de agua y adicionar 38 mL de ácido clorhídrico 6 N. Ajustar el pH, si es necesario a pH 3.5 con hidróxido de amonio 6 N o ácido clorhídrico 6 N; diluir con agua a 100 mL y mezclar.

3.7.7.2 Solución de referencia de nitrato de plomo

Disolver 159.8 mg de nitrato de plomo en 100 mL de agua a la cual se le ha agregado 1 mL de ácido nítrico; diluir con agua a 1 000 mL. Preparar y almacenar esta solución en envases de vidrio exentos de sales de plomo solubles.

3.7.7.3 Solución estándar de plomo

El día de uso, diluir 10.0 mL de solución de referencia de nitrato de plomo con agua a 100 mL. Cada mililitro de solución estándar de plomo contiene el equivalente a 10 µg de plomo.

3.7.7.4 SR de ácido sulfhídrico

Burbujear, en agua fría, el ácido sulfhídrico producido por la reacción efectuada entre la pirita y el ácido clorhídrico en agua. Almacenar en botellas pequeñas, color ámbar, completamente llenas, en lugar oscuro y frío.

Resultados

3.7.4 Registre los resultados obtenidos en la prueba límite de metales pesados

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:
Masa de la muestra

3.7.5 Observaciones:

3.7.6 Dictamen:

3.7.7 Ejercicio: Realice los cálculos para comprobar que el límite de metales pesados corresponde a 20 ppm.

3.8 VALORACIÓN

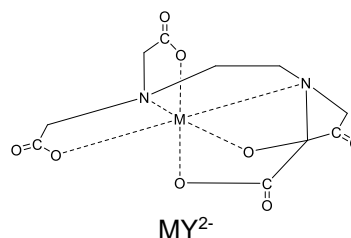
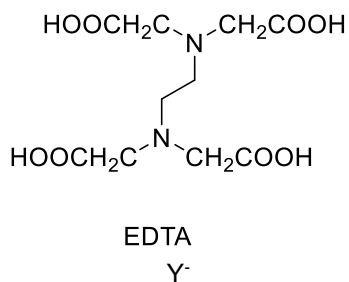
3.8.1 Fundamento

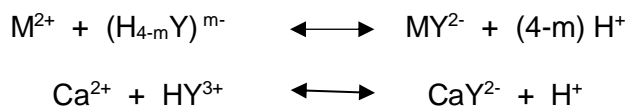
Titulación Directa. Una titulación directa implica la valoración de un analito presente en una solución con un agente valorante (SV); el agente valorante se adiciona gradualmente hasta que la reacción se complete. El punto de equivalencia, es el punto donde la cantidad de agente valorante es exactamente la necesaria para que reaccione estequiométricamente con el analito (resultado ideal). Sin embargo, lo que en realidad se mide es el punto final debido a un cambio brusco en una propiedad física de la disolución. El punto final puede determinarse con un medidor potenciométrico o con un indicador apropiado.

La bureta graduada se selecciona considerando que el volumen agregado sea entre el 30 y el 100 % de su capacidad nominal.

Nota: cuando se requiere menos de 10 mL de solución valorada, se deberá utilizar una microbureta. Cuando el punto final se aproxima, la solución volumétrica se agrega gota a gota, hasta que la última adición corresponda al punto final. La cantidad de sustancia contenida en la solución muestra, se calcula con base en el volumen utilizado del agente valorante; la normalidad del agente valorante y, el factor de equivalencia de la sustancia indicado en la monografía respectiva.

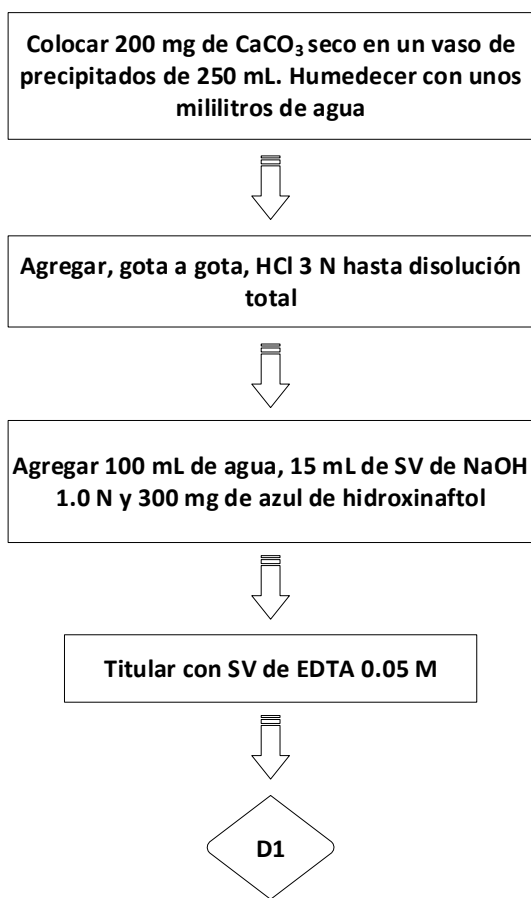
3.8.2 Reacción involucrada:





3.8.3 Procedimiento. MGA 0991. Pesar 200 mg de la muestra previamente seca a 200°C durante 4 h, pasar a un vaso de precipitados de 250 mL. Humedecer completamente con unos mililitros de agua, enseguida agregar, gota a gota, suficiente solución de ácido clorhídrico 3 N hasta completa disolución. Agregar 100 mL de agua, 15 mL de SV de hidróxido de sodio 1 N y 300 mg de azul de hidroxinaftol; titular con SV de edetato disódico 0.05 M hasta que la solución vire a un color azul. Cada mililitro de SV de edetato disódico 0.05 M equivale a 5.004 mg de carbonato de calcio.

3.8.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Indique los residuos generados.



Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Complejo EDTA-Calcio, azul de hidroxinaftol	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.8.5 Preparación de reactivos

Como se deduce del procedimiento de valoración, el ensayo requiere del empleo de la solución volumétrica de EDTA 0.05 M.

SV EDETATO DISÓDICO 0.05 M

$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2 H_2O$
18.6 g en 1 000 mL

MM 372.24

En un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver 18.6 g de edetato disódico en agua y llevar a volumen con agua.

Valorar la solución como se indica a continuación: pesar 200 mg de SRef carbonato de calcio quelométrico (secar previamente a 110 °C durante 2 h, y enfriado en desecador), pasar a un vaso de 400 mL, agregar 10 mL de agua y agitar suavemente hasta formar una suspensión. Cubrir el vaso con un vidrio de reloj y añadir con pipeta 2 mL de solución de ácido clorhídrico al 10 % m/v, insertándola entre la boca del vaso y la orilla del vidrio de reloj; agitar el contenido del vaso para disolver el carbonato de calcio. Lavar las paredes del vaso, la parte exterior de la pipeta y el vidrio de reloj con agua, y llevar a un volumen de 100 mL con agua. Agitar la solución y añadir 30 mL de la solución de edetato disódico contenido en una bureta de 50 mL. Agregar 15 mL de SR de hidróxido de sodio y 300 mg de azul de hidroxinaftol triturado, continuar la titulación con la solución de edetato disódico hasta color azul. Calcular la molaridad mediante la siguiente fórmula:

$$P / (100.09 V)$$

Donde:

P = Peso en miligramos de carbonato de calcio

V = Volumen, en mililitros, gastados de la solución de edetato disódico.

Nota: guardar en envases de polietileno.

3.8.5.1 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Pipeta volumétrica de 50 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pipeta graduada de 5 mL
1	Probeta de 50 mL
1	Pinza para bureta
2	Espátula
3	Nave de pesado
2	Vaso de precipitados de 100 mL
3	Vaso de precipitados de 400 mL
3	Vidrios de reloj
1	Parilla de calentamiento
	Perlas de ebullición

Reactivos

Agua destilada

Azul de hidroxinaftol

HCl

NaOH

Soluciones

SV de Edetato sódico 0.05 M

SV de NaOH 1 N

HCl 10% m/v

Patrón primario

Carbonato de calcio seco a 110 °C durante 2 h

Muestra

Carbonato de calcio

Resultados

3.8.5.2 En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos de la estandarización.

Equipo/instrumento utilizado

Balanza analítica

Marca:

Número:

Masa del carbonato de sodio anhidro (g)	Volumen de EDTA (mL)
MM 100.09 g/mol	

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Cálculos:

3.8.6 Valoración

Resultados

Registre las características de los equipos/instrumentos empleados.

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:

3.8.6.1 En la siguiente tabla registre los resultados obtenidos de la valoración. Con en estos resultados, calcule el porcentaje de fármaco en las muestras y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Determinación	Masa de la muestra (g)	Volumen de Edetato disódico (mL)	% de carbonato de calcio
1			
2			
3			
		Promedio	
		CV	

Cálculos:

3.8.6.2 Dictamen

4 Conclusiones finales del trabajo experimental

5 Cuestionario

5.2 Escriba la reacción involucrada en la estandarización del EDTA 0.05 M.

5.3 Justifique con cálculos el factor de equivalencia farmacopeico para realizar los cálculos de valoración (5.004 mg de carbonato de calcio por cada mililitro de SV de edetato disódico 0.05M)

5.4 Escriba la reacción involucrada para la prueba límite de metales pesados empleando la tioacetamida glicerina básica como reactivo.

6. Bibliografía

- Carbonato de Calcio. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen II, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 1300-1302.
- Generalidades: solubilidad. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 15.
- Soluciones volumétricas. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Secretaría de Salud, Volumen I, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 166-169, 175.
- MGA 0161 (Límite de cloruros); MGA 0451 (Prueba límite de hierro); MGA 0511 Identificación de iones, grupos funcionales y radicales; MGA 0561 (Metales pesados); MGA 0861 (Prueba límite de sulfatos); MGA 0991 (Volumetría). En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 303-304, 406-407, 436-441, 457-458, 507-508, 532-535.

Certificado Analítico

Producto:
 Número de lote:
 Proveedor:
 Fecha de recepción:

PRUEBA	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	DICTAMEN
Descripción	Polvo fino, microcristalino blanco		
Solubilidad en ácido mineral	Se disuelve con efervescencia en ácidos minerales diluidos; casi insoluble en agua, alcohol y éter dietílico.		
Solubilidad en alcohol			
Solubilidad en éter dietílico			
Solubilidad en agua			
Ensayos de identidad			
Identificación A I	La adición de ácido acético produce efervescencia		
Identificación B	Presenta reacción positiva a las pruebas de identidad para calcio.		
Pruebas Limite			
Prueba Límite de Cloruros	No más de 0.05%		
Prueba Límite de Sulfatos	No más de 0.25%		
Prueba Límite de Hierro	No más de 0.1%		
Prueba Límite de Metales Pesados	No más de 20 ppm		
Valoración	No menos de 98.0% y no más de 100.5%	1.- 2.- 3.- \bar{X} = CV =	
Nombre y firma del analista:		Aprobado por:	
		Fecha:	

ANEXO III PROTOCOLO EXPERIMENTAL DEL ANÁLISIS DE UN FÁRMACO

Práctica 3

ANÁLISIS DE CLORANFENICOL

ANÁLISIS DE UN FÁRMACO: CLORANFENICOL

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo general

Proporcionar al alumno los conocimientos prácticos que le permitan aplicar e interpretar de manera correcta los métodos farmacopeicos de mayor aplicación para el análisis de fármacos y aditivos.

1.2 Objetivos particulares

- Aplicar los métodos descritos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (Ediciones 9ª-12ª) para realizar las siguientes determinaciones: solubilidad, ensayos de identidad, cloruros, sulfatos, agua, índice de refracción y valoración.
- Realizar el trabajo experimental con el rigor científico necesario y cumpliendo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- Verificar que los métodos descritos en el compendio farmacopeico son idóneos para analizar el fármaco.
- Propiciar el desarrollo de habilidades y destrezas para realizar el análisis de un fármaco.
- Fomentar la responsabilidad que conlleva el tratamiento, confinamiento y disposición de los residuos generados durante el análisis.

2. ANTECEDENTES

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro activo contra numerosas bacterias Gram positivas, Gram negativas, anaerobias, Rickettsias, Mycoplasma y Chlamydia. Inicialmente, fue aislado de la especie saprófita *Streptomyces venezuelae*; en 1949 se introdujo en la clínica con gran éxito. El cloranfenicol no se utiliza como antibiótico de primera línea debido a su toxicidad sobre las células sanguíneas y la médula ósea. Este antibiótico puede producir el síndrome del niño gris cuando se administra en recién nacidos para combatir infecciones bacterianas. También, produce daño hematológico secundario como mielosupresión y anemia aplásica. En ocasiones, puede presentarse trombocitopenia, neuritis óptica y neurotoxicidad. A pesar de su toxicidad, en algunas ocasiones, se utiliza de manera sistémica debido a su eficacia contra infecciones causadas por *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecium*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*.

Finalmente, el cloranfenicol se utiliza para el tratamiento tópico (ungüentos) de una amplia variedad de infecciones bacterianas (conjuntivitis).

Defina los siguientes términos. Documente la bibliografía consultada.

Fármaco:

Bibliografía

Materia prima:

Bibliografía

Aditivo:

Bibliografía

Antibiótico:

Bibliografía

3 Procedimiento experimental

Marbete del fármaco:

En la siguiente Tabla escriba la información relacionada con la muestra objeto de análisis:

Nombre de la muestra:	
Descripción:	
Tamaño de la muestra:	
Fecha de muestreo:	
Número de lote:	
Proveedor:	
Fecha de caducidad:	
Especificaciones para el análisis:	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
Condiciones de almacenamiento:	

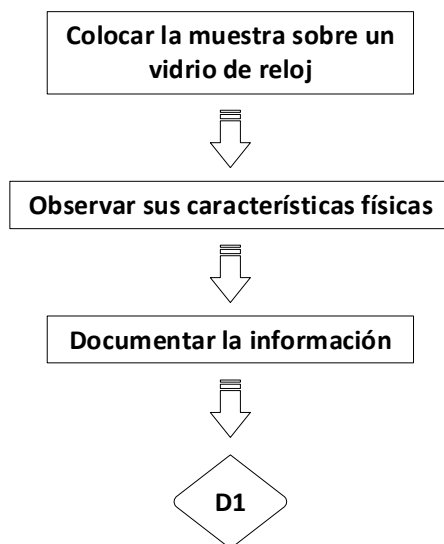
3.1 Descripción (FEUM, 12ª edición)

Polvo cristalino blanco, blanco grisáceo o blanco amarillento, o cristales finos agujas o placas alargadas.

3.1.1 Procedimiento

Colocar en un vidrio de reloj una pequeña cantidad de muestra. Registrar las características físicas observadas.

3.1.2 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento. Identifique los residuos generados.



Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Cloranfenicol	Colocar en una bolsa para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.1.3 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Espátula
1	Vidrio de reloj

Resultados

3.1.4 Escriba las características físicas de la muestra objeto de análisis

3.1.5 Dictamen

3.2 Solubilidad

Fácilmente soluble en alcohol, metanol y acetona; poco soluble en agua.

3.2.1 Fundamento

Siempre que se menciona a la solubilidad debe entenderse que es el grado de disolución de un polvo en un disolvente, a la temperatura de 25°C durante 30 minutos, con agitación vigorosa de 30 s en intervalos de 5 min. Esta propiedad se evaluará de acuerdo con los términos señalados en la FEUM 9ª edición.

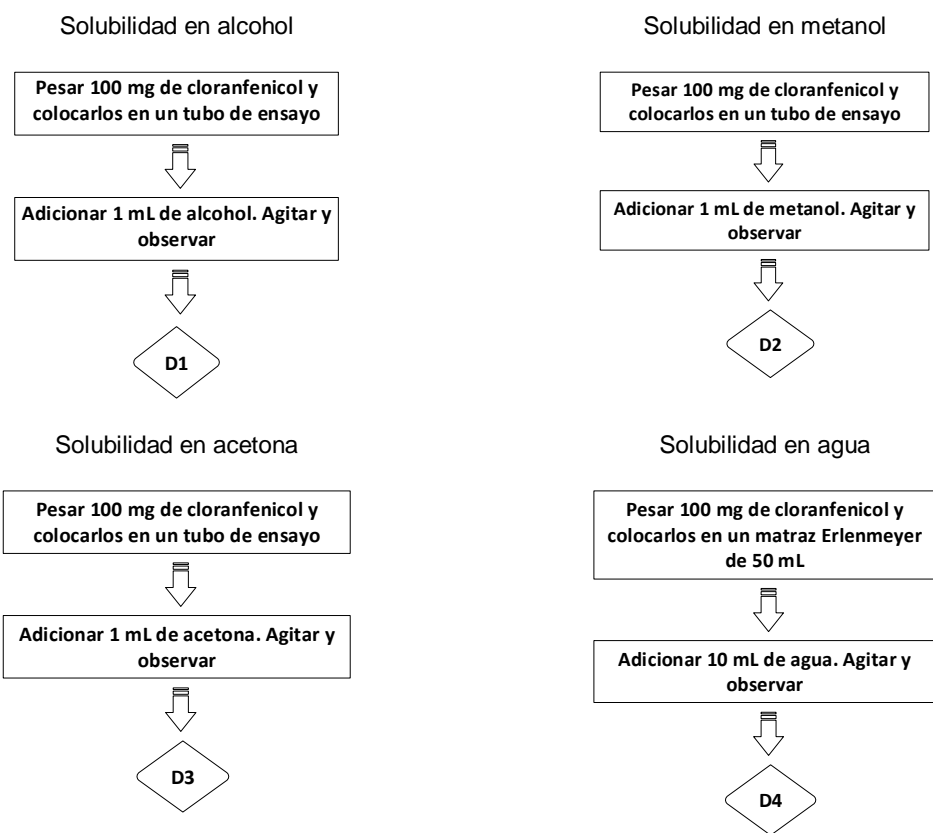
3.2.2 Realice un análisis comparativo entre los términos de solubilidad descritos en las ediciones 9ª, 10ª y 12ª de la FEUM. Documente la información en la Tabla 1.

Tabla 1. Términos de solubilidad

TÉRMINOS	FEUM, Novena Edición	FEUM, Décima Edición	FEUM, Duodécima Edición
Muy soluble	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto Menos de una parte	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto Menos de una parte	Partes de disolvente en volumen requerido para una parte de soluto Menos de una parte
Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes	De 1 a 10 partes
Soluble	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes	De 11 a 30 partes
Ligeramente soluble	De 101 a 1 000 partes	De 31 a 100 partes	De 31 a 100 partes
Poco soluble	De 31 a 100 partes	De 101 a 1 000 partes	De 101 a 1 000 partes
Muy poco soluble	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes	De 1 001 a 10 000 partes
Casi insoluble	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes	Más de 10 000 partes

3.2.3 Procedimiento. Pesar, por separado, 4 masas de cloranfenicol y disolverlas con alcohol, metanol, acetona y agua, en las proporciones indicadas en la FEUM, 9ª edición.

3.2.4 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento de solubilidad. Identifique los residuos generados.



Este diagrama representa solo un ejemplo de las proporciones de masa y disolvente indicadas en la FEUM para realizar la determinación. Considerando que el objetivo de este ensayo no es determinar el volumen de disolvente en el que se solubiliza el fármaco, para cada determinación que se realice, se empleará el volumen máximo de disolvente permitido

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Cloranfenicol y alcohol	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D2	Cloranfenicol y metanol	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D3	Cloranfenicol y acetona	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.
D4	Cloranfenicol y agua	Colocar en un recipiente para residuos y etiquetar de acuerdo con los requerimientos internos.

3.2.5 Material y reactivos

Cantidad	Material
3	Tubo de ensayo de 16 x 150 o vaso de precipitados de 100 mL (según la muestra que se utilice para realizar la determinación)
1	Probeta graduada de 10 mL
3	Pipeta graduada de 2 mL
1	Gradilla

1	Espátula
4	Nave de pesado
1	Matraz Erlenmeyer de 50 mL
1	Barras magnéticas
3	Parrilla de calentamiento/agitación

Reactivos
Alcohol
Agua destilada
Metanol
Acetona
Muestra
Cloranfenicol

Resultados

3.2.6 Registre los resultados obtenidos en las siguientes Tablas:

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:

Término de solubilidad ⁽¹⁾	Masa de (g) Cloranfenicol	Disolvente utilizado (mL)	Resultado	Dictamen

⁽¹⁾ FEUM, 9ª edición

3.3 Ensayos de Identidad A y B

3.3.1 Fundamento

Los ensayos de identidad en cada monografía están destinados a verificar que la sustancia que se analiza corresponde con la indicada en el marbete (USP).

3.3.2 Ensayo de Identidad A

3.3.2.1 Fundamento. Se basa en la medición de la absorción de la radiación infrarroja debido a la interacción con los enlaces que forman los grupos funcionales presentes en las moléculas orgánicas.

3.3.2.2 Procedimiento MGA 0351. Espectrofotometría infrarroja. El espectro IR de una dispersión de la muestra de cloranfenicol, en bromuro de potasio, corresponde con el obtenido con una preparación similar de la SRef-FEUM de cloranfenicol.

Para muestras sólidas.

Pastilla de bromuro de potasio. Pulverizar en un mortero de ágata de 1.0 a 3.0 mg de la muestra. Agregar 100 mg de bromuro de potasio (previamente seco a 105 °C durante 5 h) grado espectroscopía IR, moler y mezclar. Colocar el polvo homogéneo en una matriz cilíndrica de acero inoxidable y comprimir con la prensa hidráulica haciendo vacío durante 3 ó 4 minutos. La presión requerida normalmente para la preparación de la pastilla es de 1400 a 1762 Kg/cm².

Antes de registrar el espectro en el IR de la muestra, revisar, el instructivo de uso del instrumento.

3.3.2.3 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento del ensayo de identidad
A. Identifique los residuos generados.

Residuos generados:
No aplica

3.3.2.4 Material y reactivos

Cantidad	Material
3	Mortero de ágata
1	Espátula
1	Nave de pesado

Reactivos

Bromuro de potasio

Muestra

Cloranfenicol

Resultados

3.3.2.5 En la siguiente Tabla, registre las características de los equipos/instrumentos empleados y los datos de la sustancia de referencia:

Equipo/instrumento utilizado
IR
Marca:
Sustancia de referencia
Pureza:
Proveedor/marca:
Lote:

3.3.2.6 Anexe una imagen del espectro en el IR de la muestra y la sustancia de referencia. Interprete los espectros.

3.3.2.7 Dictamen

3.3.3 Ensayos de Identidad B

Comparar los tiempos de retención del pico principal en los cromatogramas obtenidos en la valoración.

El tiempo de retención obtenido con la preparación de la muestra corresponde al tiempo de retención obtenido con la preparación de referencia.

3.3.3.1 Fundamento

Las técnicas de separación cromatográfica son métodos de separación de múltiples etapas en los que los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases. Una de las fases es estacionaria y la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido absorbido sobre un sólido o un gel. Dicha fase puede estar empacada en una columna, extendida como una capa, distribuida como película o aplicada mediante otras técnicas. La fase móvil puede ser gaseosa, líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en la adsorción, la distribución de masa (partición) o intercambio iónico; también, puede basarse en diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, tales como tamaño, masa o volumen.

3.3.3.2 Resultados

Registre las características de los equipos/instrumentos empleados en la siguiente Tabla:

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:
Cromatógrafo de líquidos
Marca:
Número:

Registre los tiempos de retención obtenidos en la siguiente Tabla:

Fármaco	Tiempo de retención	
	Preparación estándar	Preparación de valoración
Cloranfenicol		

3.3.3.3 Anexe una fotografía de los cromatogramas obtenidos.

3.3.3.4 Observaciones

3.3.3.5 Dictamen

3.4 Temperatura de fusión. *MGA 0471*. Entre 149 y 153 °C

3.4.1 Fundamento

La temperatura de fusión de un sólido, se define como el intervalo o como un valor específico de temperatura, en el cual, el sólido se colapsa y funde por completo. La temperatura de fusión es una propiedad física que identifica a una sustancia sólida y corresponde al valor de temperatura en el cual, por efecto de la energía calorífica proporcionada a la muestra sólida, las moléculas de esta alcanzan un estado de equilibrio entre la fase sólida y la fase líquida.

3.4.3 Procedimiento

Operar el aparato de acuerdo con el instructivo de uso correspondiente.

1. Colocar una pequeña cantidad de muestra (cristalina o polvo fino) en un cubreobjetos circular limpio y seco
2. Colocar el cubreobjetos con la muestra en la placa metálica del aparato Fisher Johns. Verificar que se encuentre frío antes de realizar la determinación
3. Una vez que la temperatura sea 10 °C menor al punto de fusión esperado regular la velocidad de calentamiento a 1 °C/min.
4. Observar a través de la lupa los cambios en la muestra y registrar la temperatura (o el intervalo de temperaturas) a la que la sustancia funde instantáneamente.

3.4.4 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento la determinación del punto de fusión.

3.4.5 Material y reactivos

Cantidad	Material
1	Espátula
1	Mortero con pistilo
	Cubreobjetos circulares

Muestra
Cloranfenicol

Resultados

3.4.6 En la siguiente Tabla, registre las características de los equipos/instrumentos empleados:

Equipo/instrumento utilizado
Fischer- Johns
Marca:

Muestra
Cloranfenicol

3.4.7 Registre la temperatura de fusión obtenida. Documente, además, la temperatura de fusión obtenida por cada equipo y calcule la temperatura promedio.

Determinación	Temperatura de fusión
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
Promedio	

3.4.8 Observaciones:

3.4.6 Dictamen:

3.5 pH. MGA 0701. Entre 4.5 y 7.5

Determinar en una solución que contenga 25 mg/mL de la muestra.

3.5.1 Fundamento

Esta prueba se basa en la determinación de la actividad de los iones hidrógeno, empleando un potenciómetro, con sensibilidad para reproducir valores de pH de 0.05 unidades. Se utiliza un electrodo indicador al ión hidrógeno como el electrodo de vidrio y un electrodo de referencia apropiado, como el de calomel o el de cloruro de plata-plata. El aparato detecta el potencial en milivolts y en unidades de pH a través del par de electrodos.

Para las mediciones de pH, se utiliza ampliamente el electrodo de vidrio, debido a que registra una respuesta inmediata a los cambios rápidos de las concentraciones de iones hidrógeno aún, en soluciones poco reguladas.

Los valores de pH dependen de la temperatura, por lo tanto, las mediciones deben efectuarse a temperatura constante. Las soluciones empleadas para determinar el pH se preparan con agua exenta de dióxido de carbono.

3.5.2 Procedimiento

1. Efectuar las determinaciones a 25 ± 2 °C a menos que se indique otra cosa en la monografía correspondiente
2. Ajustar el potenciómetro de acuerdo con el procedimiento establecido en el instructivo de uso
3. Efectuar la determinación de pH
4. Repetir el procedimiento con una segunda muestra

3.5.3 Elabore un diagrama de flujo que ilustre la determinación de pH. Identifique los residuos generados.

3.5.4 Materiales y reactivos

Cantidad	Material
1	Espátula
2	Nave de pesado
2	Matraz volumétrico de 20 mL
3	Vaso de precipitados de 50 mL
1	Pipeta Pasteur

Reactivos

Agua

Soluciones amortiguadoras
comerciales (pH 4, 7 y 10)

Muestra

Cloranfenicol

Resultados

3.5.5 En la siguiente Tabla, registre las características de los equipos/instrumentos empleados y la masa de la muestra:

Equipo/instrumento utilizado

Potenciómetro

Marca:

Muestra

Masa:

3.4.7 Registre el pH obtenido y calcule el promedio

Determinación	pH
1	
2	
Promedio	

3.4.8 Observaciones:

3.4.6 Dictamen:

3.6 Sustancias Relacionadas. MGA 0241 Capa delgada.

3.6.1 Fundamento

Esta técnica es una forma de cromatografía de adsorción que consiste en un adsorbente sólido (fase estacionaria), distribuido uniformemente, sobre una superficie plana (generalmente hojas de aluminio o placas de vidrio). Las partículas finamente divididas del adsorbente le confieren cierta capilaridad y permiten que la fase móvil pase entre ellas. La separación ocurre cuando uno de los componentes de la mezcla es retenido en mayor grado por la fase estacionaria que los demás componentes. El movimiento de cada sustancia en un determinado sistema es característico y puede ser un dato valioso en la identificación de ella. Esta característica se conoce con el nombre de R_f (relación de frentes) y representa la

distancia recorrida por el compuesto, con relación, a la distancia recorrida por la fase móvil; por lo tanto, sus valores siempre oscilan entre 0 y 1.

$$R_F = \frac{D_o}{D_f}$$

Donde:

D_o = Distancia recorrida por un compuesto desde el origen

D_f = Distancia recorrida por el frente de la fase móvil

3.6.2 Procedimiento

Soporte. Gel de sílice GF₂₅₄.

Fase móvil. Cloroformo: metanol: ácido acético glacial (79:14:7).

Preparación de referencia 1: Transferir 100 mg de la sustancia de referencia de cloranfenicol a un matraz volumétrico de 10 mL; disolver y llevar al aforo con metanol. Esta solución contiene 10 mg/mL.

Preparación de referencia 2: Diluir 1 mL de la preparación de referencia 1, con metanol, hasta 100 mL. Esta solución contiene 100 µg/mL.

Preparación de referencia 3: Diluir 10 mL de la solución de referencia 2, con metanol, hasta 20 mL. Esta solución contiene 50 µg/mL.

Preparación de la muestra: Transferir 100 mg de la muestra a un matraz volumétrico de 10 mL, disolver y llevar al aforo con metanol.

Procedimiento. Aplicar en la cromatoplaca, en carriles separados, 20 µL de la preparación de la muestra, 20 µL de la preparación de referencia 2 y 20 µL de la preparación de referencia 3. Desarrollar el cromatograma hasta que la fase móvil haya recorrido 3/4 partes a partir del punto de aplicación; retirar la cromatoplaca y marcar el frente de la fase móvil. Secar la placa al aire. Examinar bajo la lámpara de luz UV a 254 nm. Cualquier mancha secundaria obtenida en el cromatograma con la preparación de la muestra no es mayor, ni más intensa, que la obtenida en el cromatograma con las preparaciones de referencia 2 y 3.

3.6.3 Elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

3.6.4 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
7	Vaso de precipitados de 50 mL
1	Matraz volumétrico de 100 mL
2	Matraz volumétrico de 10 mL
1	Matraz volumétrico de 20 mL
1	Probeta graduada de 100 mL
1	Probeta graduada de 20 mL
1	Probeta graduada de 15 mL
1	Pipeta volumétrica de 10 mL
1	Pipeta volumétrica de 1 mL
1	Espátula
2	Nave de pesado
1	Microjeringa de 25 μ L
1	Cámara de elución con tapa
1	Lámpara de luz UV

Reactivos
Cloroformo
Ácido acético glacial
Metanol
Cromatoplaque de sílice en soporte de vidrio o aluminio

Muestra
Cloranfenicol

Resultados

3.6.5 Registre las características de los equipos/instrumentos empleados y las masas de la muestra y la sustancia de referencia en la siguiente Tabla:

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:
Masa de la muestra:
Masa de la sustancia de referencia:
Pureza
Proveedor/marca
Lote

3.6.6 Analice el tamaño, color, forma, intensidad y R_F de las manchas obtenidas con las preparaciones de referencia 2 y 3 y, con la muestra. Anexe una fotografía del cromatofolio obtenido.

3.6.7 Observaciones:

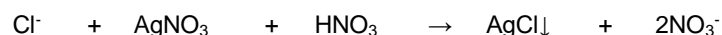
3.6.8 Dictamen:

3.7 Prueba Límite de Cloruros

3.7.1 Fundamento

Esta prueba se basa en la reacción de precipitación de los cloruros presentes en una muestra dada con una solución de nitrato de plata, produciendo un precipitado de color blanco de cloruro de plata, el cual se compara visualmente contra el producido por una cantidad conocida de cloruros.

3.7.2 Reacción involucrada



3.7.3 Procedimiento. *MGA 0161*. No más de 100 ppm.

A 1.0 g de la muestra adicionar 20 mL de agua y 10 mL de ácido nítrico y agitar durante 5 min. Filtrar a través de un papel filtro lavado previamente filtrando porciones de 5 mL de agua hasta que 5 mL del filtrado ya no se pongan opalescentes con la adición de 0.1 mL de ácido nítrico y 0.1 mL de solución de 0.425 g de nitrato de plata en 10 mL agua. 15 mL del filtrado cumplen con la prueba límite para cloruros.

3.7.3.1 *MGA 0161*. Recomendaciones especiales:

- Utilizar los mismos volúmenes y reactivos para la solución de la muestra y para la solución de referencia.
- Cuando se acidula la solución y no queda perfectamente clara, filtrar a través de papel filtro que tenga reacción negativa a cloruros.
- Mezclar, dejar reposar y hacer las observaciones comparativas en un plano horizontal contra un fondo oscuro y una fuente de luz directa a los lados del tubo.
- Cuando la monografía individual del producto señale efectuar la prueba con un volumen especificado de solución o de sustancia y el límite para cloruros corresponda a 0.2 mL o menos de solución de ácido clorhídrico 0.020 N, la prueba se realiza con la solución sin diluir. En este caso se debe mantener la misma relación de volumen, tanto para la solución de referencia, como para la solución de la muestra.

3.7.3.2 Procedimiento. *MGA 0161*:

En un tubo de Nessler disolver la cantidad de muestra especificada en la monografía respectiva, con 30 mL ó 40 mL de agua; si la sustancia es una solución agregar el agua necesaria para obtener dichos volúmenes.

Neutralizar la solución con ácido nítrico, utilizando como indicador papel tornasol. En otro tubo de Nessler se prepara la solución de referencia que sirve de comparación, con la cantidad de solución de HCl 0.02 N especificada en la monografía respectiva y se adiciona agua a un volumen de 30 mL ó 40 mL.

Agregar 1 mL de ácido nítrico y 1 mL de SR de nitrato de plata, tanto al tubo de muestra como al de referencia; enseguida agregar agua hasta 50 mL. Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos, protegidos de la luz. Observar y comparar que la turbidez producida por la muestra no sea mayor que la de la solución de referencia especificada en la monografía.

3.7.4 Con base en la información proporcionada en la monografía del fármaco y en el Método General de Análisis elabore un diagrama de flujo que ilustre el procedimiento experimental. Identifique los residuos generados.

Residuos generados:

Residuo	Contenido	Tratamiento
D1	Precipitado de cloruro de plata en medio ácido y exceso de AgNO ₃	
D2	Precipitado de cloruro de plata en medio ácido y exceso de AgNO ₃	
D3	Filtrado ácido	

3.7.5 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
2	Tubo de Nessler
10	Tubo de ensayo de 16 x 150 mm
2	Probeta graduada de 20 mL
1	Vaso de precipitados de 100 mL
1	Barra magnética
1	Probeta graduada de 10 mL
1	Embudo de filtración rápida
3	Pipeta graduada 1 mL
1	Parrilla con agitación
2	Gradilla
1	Espátula
1	Nave de pesado
1	Anillo metálico
2	Pipeta graduada 2 mL
1	Pipeta volumétrica 15 mL

Reactivos

Agua destilada

Ácido nítrico RA

Nitrato de plata RA

Soluciones

SR Nitrato de plata

SV de ácido clorhídrico 0.02 N

Muestra

Cloranfenicol

3.7.6 Preparación de reactivos

De acuerdo con lo establecido en el capítulo de soluciones volumétricas (FEUM, duodécima edición) la solución de ácido clorhídrico 0.02 N se prepara por dilución cuantitativa a partir de una solución volumétrica de mayor concentración; en este caso en particular se prepara empleando una SV de HCl 0.1 N.

3.7.6.1 SV DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1 N o 0.1 M.

HCl

MM 36.46

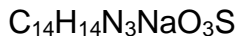
8.5 mL en 1 000mL

En un matraz volumétrico de 1 000mL, depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.

Valorar la solución como se indica a continuación: disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro (secar previamente a 270 °C durante 1 h), en 20 mL de agua y mezclar hasta disolución completa, agregar 0.1 mL de SI anaranjado de metilo y titular con la solución de ácido clorhídrico hasta vire amarillo rojizo.

Calentar a ebullición durante 2 minutos, enfriar (estas observaciones ya no aparecen en las ediciones recientes de la farmacopea, sin embargo, son importantes para visualizar de forma correcta el punto final de la reacción) y continuar la titulación hasta que el color amarillo rojizo no desaparezca. Calcular la normalidad o molaridad considerando que cada mililitro de SV de ácido clorhídrico 0.1 N o 0.1 M es equivalente a 5.3 mg de Na₂CO₃ anhidro.

3.7.6.2 SI DE ANARANJADO DE METILO



MM 327.33

4-[[[(4-dimetilamino)fenil]azo]bencenosulfonato de sodio

Es un polvo amarillo-naranja. Poco soluble en agua fría, soluble en agua caliente, insoluble en alcohol. Cambia de color rosa a amarillo, en un intervalo de pH 3.2 a 4.4.

Preparación. Disolver 100 mg de anaranjado de metilo en 100mL de agua y filtrar si es necesario.

3.7.6.3 Estandarización de la solución de ácido clorhídrico 0.1 N o 0.1 M

Para la estandarización de la solución, se deben considerar las siguientes recomendaciones:

- El procedimiento de valoración se realiza por triplicado.
- Cada pesada de carbonato de sodio anhidro debe realizarse considerando un $\pm 10\%$ de la cantidad indicada en el procedimiento.
- Para cada réplica se realiza el cálculo de normalidad y se informa con 5 cifras significativas.
- Una vez obtenidos los resultados de cada réplica calcular la media y el coeficiente de variación (CV). Para que el resultado de la estandarización sea confiable la precisión debe ser menor o igual al 0.2%, criterio FEUM.

3.7.6.4 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
3	Matraz Erlenmeyer de 250 mL
1	Probeta graduada de 50 mL
1	Pipeta graduada de 1 mL
1	Bureta de 25 ó 50 mL
1	Pinza para bureta
1	Matraz volumétrico de 500 ó 1 000 mL
1	Pipeta graduada de 10 mL
1	Espátula
3	Nave de pesado
1	Parrilla de calentamiento

Reactivos
Agua destilada
Carbonato de sodio anhidro RA (patrón primario)
Ácido clorhídrico RA
Anaranjado de metilo RA
Soluciones
SI de anaranjado de metilo
SV HCl 0.1 N

Resultados

3.7.6.5 En las siguientes tablas registre los resultados obtenidos de la estandarización de la SV de ácido clorhídrico 0.1 N.

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:

Masa del carbonato de sodio anhidro (g) MM 106 g/mol	Volumen de ácido clorhídrico (mL) MM 36.5 g/mol

Con base en los resultados obtenidos calcule la normalidad real de la solución y el coeficiente de variación entre las réplicas.

Reacción involucrada

Cálculos:

3.7.6.6 SV DE ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.02 N

Una vez estandarizada la solución de ácido clorhídrico 0.1 N preparar, por dilución cuantitativa, la solución 0.02 N. Esta solución se prepara el día de uso, aplicando, la siguiente relación:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Cálculo de la dilución:

Comprobación de la concentración 0.020 N

3.7.6.7 Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
1	Matraz volumétrico de 50 ó 100 mL
1	Bureta de 50 mL
1	Pinza para bureta

Reactivos

Agua destilada

Soluciones

SV ácido clorhídrico 0.1 N

Resultados

3.7.7 Registre los resultados obtenidos de la prueba límite de cloruros

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número:
Masa de la muestra:

3.7.8 Observaciones

3.7.9 Dictamen:

3.7.10 Realice los cálculos para comprobar que el límite de cloruros corresponde al 100 ppm

3.8 Valoración MGA 0241, CLAR

3.8.1 Fundamento

Las técnicas de separación cromatográfica son métodos de separación de múltiples etapas en los que los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases. Una de las fases es estacionaria y la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido absorbido sobre un sólido o un gel. Dicha fase puede estar empacada en una columna, extendida como una capa, distribuida como película o aplicada mediante otras técnicas. La fase móvil puede ser gaseosa, líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en la adsorción, la distribución de masa (partición) o intercambio iónico; también, puede basarse en diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, tales como tamaño, masa o volumen.

3.8.2 Procedimiento.

Fase móvil. Agua: metanol: ácido acético glacial (55:45:0.1), filtrar y desgasificar. Ajustar si es necesario.

Preparación de referencia. Preparar una solución que contenga 80 µg/mL de la sustancia de referencia de cloranfenicol disuelta en fase móvil. Filtrar a través de un filtro con una porosidad de 0.5 µm o menor. Utilizar el filtrado claro.

Procedimiento sugerido: Transferir 20 mg de la sustancia de referencia de cloranfenicol a un matraz volumétrico de 50 mL; agregar fase móvil hasta disolución total; diluir a volumen con fase móvil y mezclar. Diluir 5.0 mL de la solución anterior, con fase móvil, hasta 50 mL. Filtrar a través de un filtro con una porosidad de 0.5 µm o menor. Utilizar el filtrado claro.

Preparación de la muestra. Transferir 100 mg de muestra a un matraz volumétrico de 50 mL; agregar fase móvil hasta disolución total; diluir a volumen con fase móvil y mezclar. Diluir 2.0 mL de la solución anterior, con fase móvil, hasta 50 mL. Filtrar a través de un filtro con una porosidad de 0.5 µm o menor. Utilizar el filtrado claro.

Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de UV a 280 nm. Columna de 4.6 mm x 10 cm empacada con L1. Flijo de 1.0 mL/min.

Verificación del sistema. Inyectar, 6 veces, la preparación de referencia y medir los picos respuesta como se indica en el procedimiento.

La eficacia de la columna no es menor de 1 800 platos teóricos. El factor de coileo no es mayor de 2.0 y el coeficiente de variación, para inyecciones repetidas, no es mayor del 1.0 %.

Procedimiento. Inyectar por separado 10 µL de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra; registrar los cromatogramas y medir la respuesta de los picos principales. Calcular la cantidad en miligramos de cloranfenicol con la siguiente fórmula:

$$2.5 C \left(\frac{A_m}{A_{ref}} \right)$$

Donde:

- C = Concentración, en microgramos por mililitro, de la sustancia de referencia de cloranfenicol en la preparación de referencia.
Am = Área bajo el pico obtenido en el cromatograma con la preparación de la muestra
Aref = Área bajo el pico obtenido en el cromatograma con la preparación de referencia

Recomendaciones especiales:

1. Filtrar la fase móvil a través de una membrana de 0.22 µm
2. Desgasificar la fase móvil, durante 20 min, en un sonicador apropiado

3. Revisar el instructivo de uso del cromatógrafo de líquidos
4. Equilibrar la columna y el detector con la fase móvil y el flujo especificado en el procedimiento hasta obtener una señal constante
5. Filtrar las muestras a través de acrodiscos de 0.45 μm
6. Inyectar una muestra y comenzar la elución de los analitos
7. Registrar el cromatograma
8. Analizar los datos de acuerdo con lo especificado en la monografía

3.8.2.1 Adecuabilidad del sistema

Para verificar que el sistema cromatográfico sea adecuado para el análisis, inyectar, 6 veces la *Preparación estándar* y registrar los cromatogramas respuesta. En la siguiente Tabla escriba las áreas de los picos respuesta y calcule el promedio y su desviación estándar relativa (DER). Registre, también, el factor de coleo y el número de platos teóricos.

No. de inyección	Área (mAU)
	Cloranfenicol
1	
2	
3	
4	
5	
6	
Promedio	
DER	
Factor de coleo	
Platos teóricos	

Criterios de aceptación:

DER	≤ 1.0
Factor de coleo	≤ 2.0
Platos teóricos	$\geq 1\ 800$

3.8.2.2 Dictamen

3.8.3 Elabore un diagrama de flujo que lustre el procedimiento experimental. Indique los residuos generados.

3.8.4. Material, reactivos y soluciones

Cantidad	Material
2	Equipo de filtración Wheaton 1000 mL
1	Matraz volumétrico de 1000 mL
1	Probeta graduada 500 mL
1	Pipeta graduada 1 mL
7	Matraz volumétrico de 50 mL
1	Matraz volumétrico de 25 mL
4	Pipeta volumétrica de 2 mL
2	Vaso de precipitados de 250 mL
2	Frasco Wheaton de 1 L
1	Espátula
2	Nave de pesado
	Viales para HPLC
1	Sonicador

Reactivos
Agua HPLC
Metanol HPLC
Ácido acético

Sustancia de referencia
Cloranfenicol

Otros materiales
Acrodiscos 0.45 μm
Jeringas de vidrio de 5 mL
Membranas de filtración de 0.45 μm

Muestra
Cloranfenicol

3.8.5 Resultados

3.8.5.1 Registre las características de los equipos/instrumentos empleados y las masas de las sustancias de referencia pesadas en la siguiente Tabla:

Equipo/instrumento utilizado
Balanza analítica
Marca:
Número interno:
Masa de la sustancia de referencia
Masa del cloranfenicol:
Pureza
Proveedor/marca
Masas de las muestras
Preparación de valoración 1
Preparación de valoración 2
Preparación de valoración 3
Cromatógrafo de líquidos
Marca:
Número:

3.8.5.2 Registre los cromatogramas de la *Preparación estándar* y de las *Preparaciones de valoración*. Anexe una fotografía de los cromatogramas obtenidos y registre los datos en la siguiente Tabla.

Áreas de los picos:

Preparación	Área (mAU)
	Cloranfenicol
Estándar	
Valoración 1	
Valoración 2	
Valoración 3	
Promedio	
CV	

Cálculos:

3.8.6 Dictamen

5.4 Considera que la metodología realizada sería de utilidad para analizar un ungüento o una solución oftálmica. Explique su respuesta

6. Bibliografía

- Cloranfenicol. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen II, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 1344-1345.
- Generalidades: solubilidad. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 15.
- Soluciones volumétricas. En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 166-168.
- MGA 0161 (Límite de cloruros); MGA 0241 (Cromatografía); MGA 0351 (Espectroscopia IR); MGA 0471 (Temperatura de fusión); MGA 0701 (pH); MGA 0741 (Índice de refracción). En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Duodécima Edición, Volumen I, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea, México, 2018, 303-304, 318-333, 383-389, 409-411, 493-494, 501-502.

CERTIFICADO DE ANÁLISIS

Producto:
 Número de lote:
 Proveedor:
 Fecha de recepción:

PRUEBA	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO	DICTAMEN
Descripción	Polvo blanco cristalino, blanco grisáceo, blanco amarillento o cristales finos, agujas o placas alargadas		
Solubilidad en alcohol	Fácilmente soluble en alcohol, metanol y, acetona; poco soluble en agua		
Solubilidad en metanol			
Solubilidad en acetona			
Poco soluble en agua			
Ensayos de Identidad			
Identificación A	El espectro en el IR de la muestra de cloranfenicol corresponde con el obtenido con una preparación similar de la sustancia de referencia		
Identificación B	Comparar los tiempos de retención del pico principal en los cromatogramas obtenidos de la valoración. El tiempo de retención obtenido con la preparación de la muestra corresponde con el tiempo de retención obtenido con la preparación de referencia		
Temperatura de fusión	Entre 149 y 153°C		
pH	Entre 4.5 y 7.5		
Sustancias relacionadas	No más del 2.0%		
Prueba Límite de Cloruros	No más de 100 ppm		
Valoración	Contiene no menos de 97.0% y no más del 103.0%	$\bar{X} =$ CV =	

Nombre y firma del analista:

Aprobado por:

Fecha:

