

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SEPARACION CROMATOGRAFICA EN PLACA FINA
Y VALORACION ESPECTROFOTOMETRICA
DE SULFATO DE NEOMICINA EN UN AEROSOL

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

Ma. EUGENIA TORRES ALPUCHE

México, D. F. 348 1975



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS. 10511
ADQ. 1975
FECHA
PROC. M7-1371 329



QUÍMICA

JURADO:

Presidente: Prof. Ramón Ulacia Esteve.
Vocal: Prof. Ehtelvina Medrano de Jaimes.
Secretario: Prof. Héctor J. Jara Farjeat.
1er. suplente: Prof. Mario Miranda Castro.
2° suplente: Prof. Socorro Recinas Pérez.

El tema fue desarrollado en los Labo
ratorios "GRUPO ROUSSEL, S.A."

Sustentante: Ma. Eugenia Torres Alpu
che.

Asesor del tema: Héctor J. Jara Far-
jeat.

Agradezco de manera muy especial a los Laboratorios "GRUPO ROUSSEL, S.A.", por la ayuda que me han brindado a lo largo de mi carrera.

Al Sr. Q.F.B. Antonio Macías Fernández, a la Srita. Q.B. Consolación - Nuñez Cornejo, al Sr. Q.F.B. Héctor J.- Jara Farjeat, que tan acertadamente me han aconsejado y dirigido.

A MIS PADRES:

Juventina Alpuche de Torres,

Salvador Torres García.

Con amor, respeto y agradecimiento.

A MI ESPOSO:

Joel Gutiérrez Saldaña.

A MI HIJO:

Joel Gutiérrez Torres.

A MI HERMANO:

Filiberto Torres Alpuche.

A LA SEÑORA:

Ana Ma. Saldaña Vda. de G.

A todas las personas que
directa o indirectamente
contribuyeron a la realiz
zación de esta TESIS.

I N D I C E

CAPITULO	I.	INTRODUCCION	1
CAPITULO	II.	GENERALIDADES	3
CAPITULO	III.	PARTE PRACTICA	10
CAPITULO	IV.	RESULTADOS Y CONCLUSIONES	22
CAPITULO	V.	BIBLIOGRAFIA	31

I N T R O D U C C I O N

Los antibióticos, sustancias producidas por microorganismos; tienen la propiedad de inhibir el crecimiento de bacterias y hongos o bien destruirlas; (bacteriostáticos, fungistáticos, bactericidas o fungicidas).

Desde hace mucho tiempo se han hecho investigaciones para encontrar sustancias que destruyan o por lo menos inhiban el crecimiento de los microorganismos patógenos. El descubrimiento más importante en este campo, hecho por Fleming en 1928 fue la Penicilina que despertó el interés en la investigación de los antibióticos.

Desde entonces se han aislado muchos de estos compuestos y otros se han sintetizado (quimioterápicos).

El uso de estos compuestos tiene cada vez más aceptación debido a que los resultados terapéuticos son rápidos y eficaces; sin embargo la mayoría son relativamente tóxicos.

Los métodos de producción de estas sustancias son muy variados pero los métodos de valoración son semejantes; generalmente microbiológicos.

Estos métodos de valoración presentan dificultad debido a que el tiempo de análisis es largo y las condiciones de la prueba deben ser sumamente controladas.

El objeto buscado en esta tesis es el desarrollar un método de valoración práctico, rápido, económico y efectivo para un antibiótico: - la Neomicina en forma de sulfato.

El método propuesto para la valoración del antibiótico en la Forma Farmacéutica de Aerosol; es la separación cromatográfica en placa fina y la reacción efectuada sobre la zona de sílica que contiene el antibiótico.

II. GENERALIDADES

Sobre la Neomicina:

La Neomicina es un antibiótico; aislado por Waksman y Lechevalier en 1949 del actinomicete *Fradia*; fue encontrado cuando se hacían investigaciones encaminadas a encontrar sustancias activas contra las razas de *Myco Tuberculosis* resistentes a la estreptomicina.

Del cultivo se aísla una mezcla de Neomicinas (A,B y C). Tiene efectos tóxicos muy delicados al ser aplicada parenteralmente; por este motivo se recomienda la aplicación local de este antibiótico en infecciones de la piel y mucosas y en forma oral para esterilizar el intestino grueso antes de operaciones. La administración parenteral es empleada sólo en casos patológicos muy graves y en infecciones peligrosas para la vida.

El espectro de actividad comprende principalmente gérmenes gram-negativos (grupo coli, bacilo de Friedländer, Shigelas, Salmonelas, Brucelas y Preteus vulgaris). Gram positivas (estafilococos, bacilos dift^{er}é

ricos, pero no el grupo de estreptococos). Además tiene acción tuberculostática.

Las formas farmacéuticas conteniendo Neomicina, que se encuentran en el mercado son: soluciones inyectables; polvos para aplicación local y para inyección, pomadas, ungüentos oftálmicos; tabletas, cápsulas, gotas nasales auriculares y aerosoles.

La capacidad de este antibiótico para precipitar ácidos nucleicos (in vitro) y desabsorber grandes cantidades de B₁₂ radiactiva de las superficies de las células bacterianas sugieren que un mecanismo posible de su acción bactericida es el de una interacción en la superficie celular con los ácidos nucleicos bacterianos.

Es absorbida escasamente por vía oral; para alcanzar terapéuticos se requiere la administración parenteral, alcanzándose una concentración sérica mínima promedio, mediante 0.5 g. cada 8 horas, de 5 µg/ml y un nivel máximo de 30 µg/ml. La vía excretora principal es la orina, en donde las concentraciones exceden hasta en 10 tantos a los niveles sanguíneos, también se excretan grandes cantidades por la bilis.

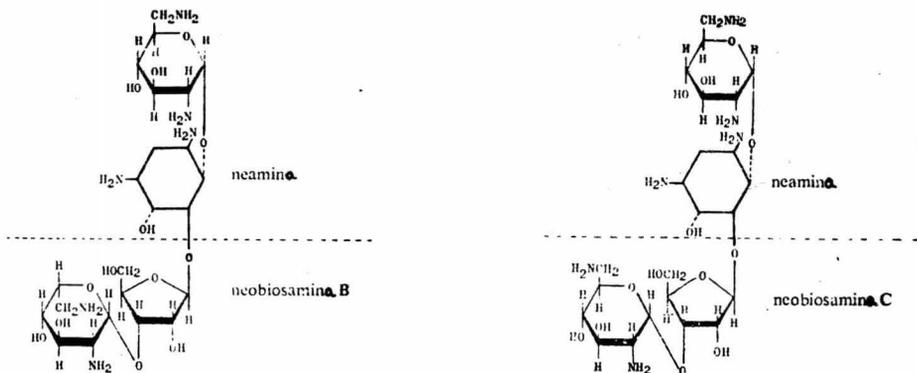
Toxicidad: La frecuencia de las manifestaciones secundarias tóxicas depende de la dosis (cuando pasa de 1 g) y de la duración del tratamiento (que no debe exceder de siete días, a ser posible).

Produce neurotoxicidad; ototoxicidad de diversos grados, hasta sordera total, las cuales, se observan en un 10% de los pacientes y no -

son reversibles; nefrototoxicidad, con albuminuria, cilindruria, aumento del nitrógeno no protéico, generalmente de índole reversible. Con tratamientos más prolongados se han observado lesiones gravísimas e irreversibles de las células tubulares.

La Neomicina comercial es una mezcla de neomicinas B y C, las cuales contienen en su molécula a la Neomicina A. La proporción de B y C varía con los diferentes lotes de producción. La diferencia entre las Neomicinas B y C es la configuración del grupo metilamino de la fracción de neobiosamina.

La fórmulas estructurales son:



Neomicina B

Neomicina C

Esta mezcla, da como resultado el sulfato que es la sal que proporciona las preparaciones farmacéuticas comerciales.

El sulfato de neomicina es un polvo blanco o ligeramente amarillento, inodoro o prácticamente inodoro e higroscópico. Sus soluciones son dextrógiras. El pH de una solución acuosa de 33 mg/ml está entre 5.0 y 7.5; es soluble en agua (1:1), poco soluble en alcohol e insoluble en acetona, cloroformo y éter (tanto la sustancia sólida como las soluciones son bastante estables a la temperatura ordinaria; sin embargo como se oscurecen por acción de la luz, es preferible conservarlas a baja temperatura). Es una sustancia básica, relativamente estable al calor y a los cambios de pH.

Reacciones de identidad: 1) La solución de 2 mg de neomicina -- (sulfato) en 2 c.c. de ácido sulfúrico, es incolora (diferencia con la eritromicina, que da coloración rojoparda). 2) Sus soluciones acuosas dan las reacciones características de los sulfatos.

La actividad óptima la presenta en medio alcalino. La inactivan pronto el ácido oléico y el nucleínico y en pequeño grado de Cisteína y la hidroxilamina; el suero, el pus, etc., no la alteran, ni tampoco las enzimas bacterianas.

CROMATOGRAFIA EN PLACA FINA:

El uso de la cromatografía en placa fina para la separación e identificación de fármacos y otros compuestos, se ha desarrollado ampliamente por cuatro razones principales: rapidez, sensibilidad, gran capacidad de resolución y el uso de pequeñas cantidades de muestra.

Este procedimiento, inventado por el botánico ruso Tswett en 1906, se funda en fenómenos de adsorción, partición y reacciones por intercambio de iones; se empleó por primera vez para separar pigmentos coloridos extraídos de hojas verdes; de ahí su nombre.

Este método extraordinario tiene vasta aplicación y en la actualidad nos proporciona facilidad para la cuantificación de compuestos. El principio del método, es la utilización de una fase fija o adsorbente y una fase móvil o eluente.

Para la elección de adsorbente y disolvente, se tienen que tomar en cuenta diversos factores. Estas dos fases inmiscibles deben retener los solutos en equilibrio dinámico, pero el adsorbente debe tener afinidad exacta por los solutos. Si atrae a los solutos demasiado fuertemente, no se puede hacer que estos emigren y se dificultará la recuperación por elución. Si el adsorbente tiene poca afinidad por los solutos, emigran rápidamente y no se efectúa ninguna separación.

Hasta hoy no se han establecido principios determinantes para la elección de adsorbentes y disolventes. Sin embargo, en la elección

de los solventes, se toma en cuenta principalmente la polaridad de la sustancia problema. Para las sustancias polares se usan solventes polares y para no polares, los solventes son no polares o de polaridad baja; así mismo se toman en cuenta los grupos funcionales principales y se escogen solventes con grupos afines; atendiendo a aquella frase de "lo semejante atrae lo semejante".

Al seleccionar el adsorbente es necesario tomar en cuenta las características de los compuestos por separar; en principio es esencial considerar la solubilidad de la sustancia de la que se quiere obtener el cromatograma. Puede ser hidrofílica (soluble en agua) o lipofílica (soluble en grasa) estas propiedades dependen del número y naturaleza de los grupos funcionales. También es necesario saber si la sustancia tiene carácter ácido, neutro, básico o anfótero. Finalmente se debe conocer si el compuesto puede reaccionar con el adsorbente o los aditivos usados para detectarlo.

Tomando en cuenta esto, se han desarrollado tres adsorbentes fundamentales.

Silicagel G: Produce una capa de actividad acídica que tiene alta retención sobre ácidos fuertes en un disolvente neutro. Sin embargo, seleccionando adecuadamente el solvente se pueden separar sustancias de carácter básico.

Alúmina G: Produce una capa de actividad básica; que retiene ba

ses fuertes. Es adecuada para compuestos neutros o básicos.

Kieselguhr G; Produce una capa prácticamente inactiva; se usa principalmente para compuestos altamente hidrofílicos como para iones anfóteros.

III. PARTE PRACTICA

Plan de trabajo.

1). Preparación de placas: Se utilizaron placas de vidrio de 20 x 20 cm; las cuales se colocaron en una plantilla especial, se limpiaban y desengrasan perfectamente bien con alcohol etílico y posteriormente con éter o hexano. Ya secas, se vierte la suspensión del adsorbente, de manera que el espesor de la capa sea de 0.35 mm.

Se utilizó sílcagel HF₂₅₄ Seg. Stahl (tipo 60) Merck. La actividad de la placa es semejante a la de la silicagel G, pero no contiene yeso como aglutinante; la letra F indica aditamentos fluorescentes, el número señala la longitud de onda a la que se presenta la fluorescencia; la denominación "Tipo 60", nos indica que el poro es mediano. Se eligió este adsorbente porque al revelar con spray de ninhidrina, presenta manchas mejor definidas que las placas preparadas con silicagel G y GF₂₅₄.

La mezcla de sílica se logra con 40 g. suspendidos en 80 ml. de agua destilada. Se secan las placas al aire, hasta observar la evapo

ración casi total del agua y se colocan a 110°C por una hora; esto sirve para activar la placa. Se guardan en un desecador hasta ser usadas.

El sistema de elución establecido más adecuado para la separación del sulfato de neomicina en la mezcla del alosol spray fue: amoníaco 3%-acetona (160: 40).

2). Preparación de la solución patrón y problema a una concentración de 10 mcg/ml.

3). División de la placa en 6 porciones iguales en las que se hacen las siguientes aplicaciones: 30 mcg de patrón de sulfato de neomicina; 3 porciones con 30 mcg. de solución problema y la última porción con 30 mcg. de patrón; esta porción, se revela y sirve para localizar la zona donde se encuentra el sulfato de neomicina.

4). Colocación de la placa en una cámara cerrada, en la que se ha vertido la siguiente mezcla: amoníaco 3% - acetona (160:40). Dejar correr el solvente durante una hora.

5). Sacar la placa de la cámara y dejar secar 15 minutos a temperatura ambiente; colocar la placa en estufa a 110°C durante media hora.

6). Sacar la placa de la estufa y cubrir el área de sílica (exceptuando la última porción). Aún caliente; rociar la porción descubierta con spray de ninhidrina, teniendo cuidado de no invadir las otras

porciones. Inmediatamente aparece una mancha violeta que nos marca la -
región que deberá separarse.

7). Cortar la sílica 1 cm. arriba y 1 cm. abajo de la zona de
el patrón revelado. Raspar las zonas individualmente y colocarlas en el
tubo de ensayo marcado.

8). A cada tubo conteniendo la zona por valorar, adicionar -
1 ml. de agua destilada y 5 ml. de reactivo orcinol-cloruro férrico, ta-
par y agitar suavemente, colocar todos los tubos al mismo tiempo en un -
baño de agua hirviente durante una hora: se desarrolla un color verde es
meralda. Sacar los tubos del baño y dejar enfriar a temperatura ambiente.

9). Filtrar a través de papel Whatman número 40.

10). Leer la absorbancia del filtrado en un espectrofotómetro-
adecuado, a 665 n m.

MATERIAL Y REACTIVOS:

Placas de vidrio de 20 x 20 cms.

Plantilla para preparación de placas.

Dispositivo especial para cubrir las placas con la sílica.

Balanza granataria.

Espátula grande (hoja de 15 cms.).

Estufa controlada a 110°C.

Desecador para guardar las placas.

Jeringa de aplicación con capacidad de 50 μ l.

Dispositivo especial para rayar las placas.

Cámara cerrada para eluir.

Rociador especial para las placas.

Navaja.

Tubos de ensayo de 16 x 150 mm. con tapón esmerilado.

Gradilla para tubos de ensayo.

Parrilla eléctrica.

Baño María.

Embudos de cola corta para filtración rápida de 4 cm. de diámetro.

Matraces erlenmeyer de 25 ml. para recibir el filtrado.

Espectrofotómetro.

Vasos de precipitados de 50 y 400 ml.

Matraces aforados de 10 ml.

Agitadores de vidrio.

Agitadores magnéticos.

Pinzas desengargoladoras.

Balanza analítica.

Silicagel HF₂₅₄ Nach Stahl (tipo 60).

Sulfato de neomicina Patrón.

Sulfato de neomicina problema (mezcla de alosol spray).

Agua destilada.

Hidróxido de amonio concentrado.

Acetona.

Acido cítrico.

Hidróxido de sodio normal.

Cloruro estanoso.

Metil celosolve.

Ninhidrina.

Orcinol.

Cloruro Férrico.

Acido clorhídrico concentrado.

Acido acético concentrado.

PREPARACION DE REACTIVOS:

Preparación del reactivo spray de ninhidrina:

Se preparan 50 ml. de buffer de citrato 1M(1.05 g. de ácido cítrico y 10 ml. de hidróxido de sodio normal diluídos a 50 ml.): se le agregan 80 mg. de cloruro estanoso y esta solución se adiciona a 50 ml. de metil celosolve conteniendo 2 g. de ninhidrina.

La solución así obtenida se puede usar durante 5 días para revelar las placas y se conserva en refrigeración.

Preparación del reactivo orcinol-cloruro férrico:

Se disuelven 40 mg. de orcinol en 40 ml. de una mezcla de ácido clorhídrico-ácido acético (1:3) y se le agregan 0.4 ml. de cloruro férrico molar (2.7 g. de cloruro férrico en 10 ml. de agua).

Este reactivo debe prepararse en el momento de ser usado.

PREPARACION DE PATRON Y PROBLEMA:

Patrón: Pesar 100 mg. de sulfato de neomicina patrón previamente secado a 60°C en estufa de vacío tres horas y llevarlo a 10 ml. con agua destilada, obteniéndose una concentración de 10 µg/µl.

Problema: La mezcla de polvo en el alosol spray tiene la siguiente fórmula:

Sulfato de Polimixina B	300,000 U
Sulfato de Neomicina	1 g.
Bicitracina Zinc	50,000 U
Acetato de hidrocortisona	1 g.
Benzocaína	0.50 g.
Vehículo y propelente c.b.p.	100.00 g.

El frasco contiene 20 g. de suspensión.

De acuerdo con esta fórmula, el peso teórico de la mezcla de polvo por frasco, sería 682 mg. Debido a que para cada lote de la mezcla, varía la cantidad de unidades/mg. de cada antibiótico, se calcula la cantidad de cada uno para cada elaboración del alosol. En el lote estudiado, el peso promedio corresponde a 764.7 mg/fco. Para obtener la concentración deseada se hizo el siguiente cálculo:

En 764.7 mg. de mezcla, hay 200 mg. de sulfato de neomicina; -
100 mg. estarán en 382.3 mg. de mezcla.

Pesar 382.3 mg. de mezcla equivalente a 100 mg. de sulfato de

neomicina patrón, llevar a 10 ml. con agua y agitar durante 15 minutos - para obtener la disolución completa del sulfato de neomicina, filtrar. - La concentración obtenida es la misma que la del patrón.

Para preparar el problema, debemos eliminar el propelente. El aerosol es una suspensión de partículas sólidas o líquidas en un gas, - (en este caso son partículas sólidas); para la eliminación del gas, se hace un pequeño orificio en el engargolado del frasco y se deja escapar lentamente durante 2 horas, se destapa totalmente y se utiliza la muestra hasta que esté completamente seca. Esta preparación se hace el día anterior a la valoración. Secando tres horas en estufa de vacío a 60°C.

INICIO DEL EXPERIMENTO Y COMPROBACION DEL METODO ANALITICO:

Para saber si cada una de las sustancias podían separarse de la placa fácilmente, se investigó la solubilidad de cada una en el agua, ya que el sulfato de neomicina es soluble en ella. Se vio que el sulfato de Polimixina es muy soluble en el agua y podía interferir en la valoración, entonces se hizo una placa en la que se aplicaron cada uno de los compuestos del aerosol y en una porción se aplicó el problema (mezcla de aerosol agitada con agua y filtrada).

Se reveló la placa con spray de ninhidrina y se obtuvieron tres

manchas violeta con el mismo Rf: neomicina, polimixina y problema.

Se pensó que la polimixina podría reaccionar de igual manera - que la neomicina y entonces se probó en nuevas placas.

Las mezclas que se utilizaron en estas placas se prepararon en el laboratorio con el fin de obtener resultados lo más exacto posibles. Todas estas muestras tienen una concentración de 10 mcg./ μ l.

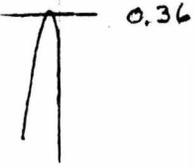
Las muestras fueron:

- a) Sulfato de neomicina
- b) Sulfato de neomicina + sulfato de polimixina
- c) Mezcla de alosol (todos los componentes excepto el gas).
- d) Todos los componentes menos el sulfato de neomicina.
- e) Polimixina.
- f) Patrón de sulfato de neomicina para revelar.

Se aplicaron 30 μ l (300 mcg.). Una vez aplicadas, se eluyen - por un hora con amoníaco 3% - acetona (160:40), se secan a temperatura ambiente y luego a 110°C durante media hora, se revela la zona del patrón, se raspan las zonas a la misma altura y se pasan a los tubos de ensaye con tapón esmerilado; se diluyeron con 1 ml. de agua destilada - y se agregó el reactivo orcinol-cloruro férrico; se taparon los tubos - y se pusieron en baño de agua hirviente durante una hora, se sacan, se dejan enfriar, se filtran y se leen al espectrofotómetro.

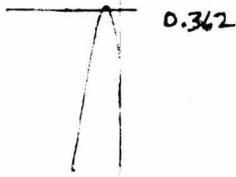
Se obtiene la siguiente gráfica:

Sulfato de neomicina



Polimixina

Polimixina + sulfato de neomicina



Problema sin sulfato de neomicina



Problema

GRAFICA 1

0.003

En ella observamos:

La polimixina sola, no absorbe; el problema sin sulfato de neomicina absorbe 0.003; el problema completo absorbe 0.37; el sulfato de neomicina solo, absorbe 0.36 y la polimixina + sulfato de neomicina absorbe 0.362. Esto nos indica que ni la polimixina, ni los otros componentes del alosol, interfieren en nuestra reacción.

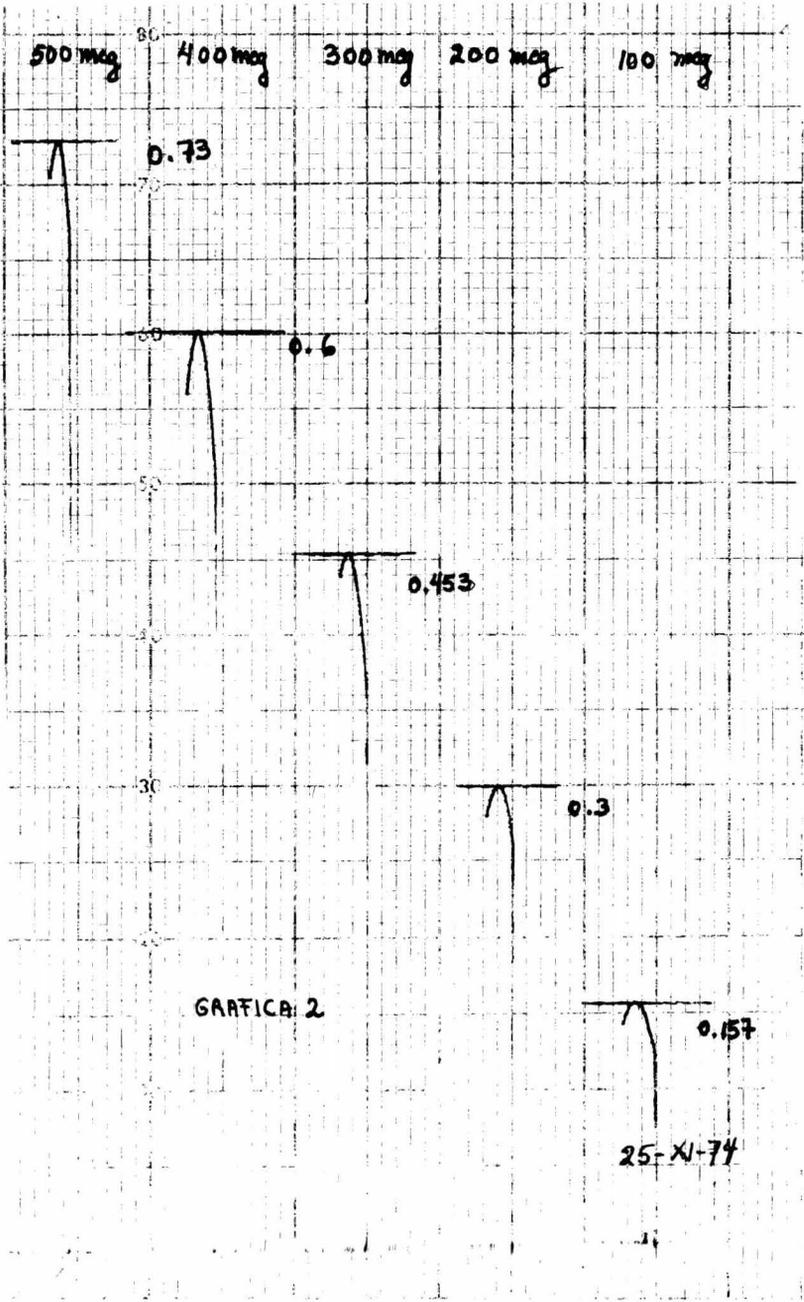
Una vez obtenidos estos resultados, podemos continuar con el plan de trabajo antes descrito.

Se hicieron 20 placas con aplicaciones de 400 mcg. de muestra, colocando en cada placa: patrón, blanco, tres problemas y patrón para revelar. Se obtuvo una absorbancia promedio de 0.4.

Se procedió a hacer el análisis estadístico, aplicando las siguientes porciones: patrón, blanco, tres problemas y patrón para revelar. Se siguen obteniendo absorbancias promedio de 0.4 en 12 placas consecutivas.

En la placa número 13, se observa un cambio en el color verde de la solución; se intensifica; esto se ve en los resultados de las lecturas; las seis placas siguientes tienen una absorbancia promedio de 0.6 para 400 mcg.

Una explicación propuesta para este cambio, fue el empleo de un frasco nuevo de silicagel; se procedió a hacer una curva patrón con diferentes concentraciones, obteniéndose la siguiente gráfica:



Se hicieron cuatro placas más y se sigue obteniendo absorción - de 0.6; para 400 mcg.; entonces se probaron las muestras en diferentes - placas con diferentes clases de adsorbentes para ver si esto influía; se probó con los siguientes:

- a) silicagel GF
- b) silicagel G
- c) silicagel HF en uso
- d) silicagel HF (abierto para la prueba)

En todas ellas las absorbancias son muy parecidas, no se observa cambio exagerado. Por último se hicieron 10 placas más y las absorbancias fueron más altas que las de un principio; sin embargo las absorbancias de patrón y problema en la misma placa, guardan una relación muy estrecha, por esto, los resultados fueron normales.

La segunda proposición y más acertada es la siguiente:

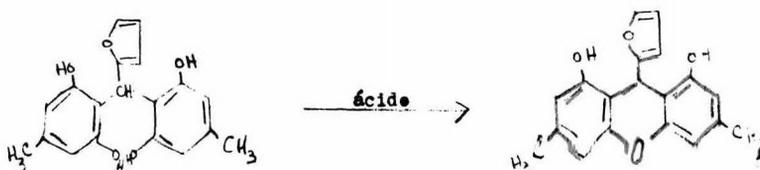
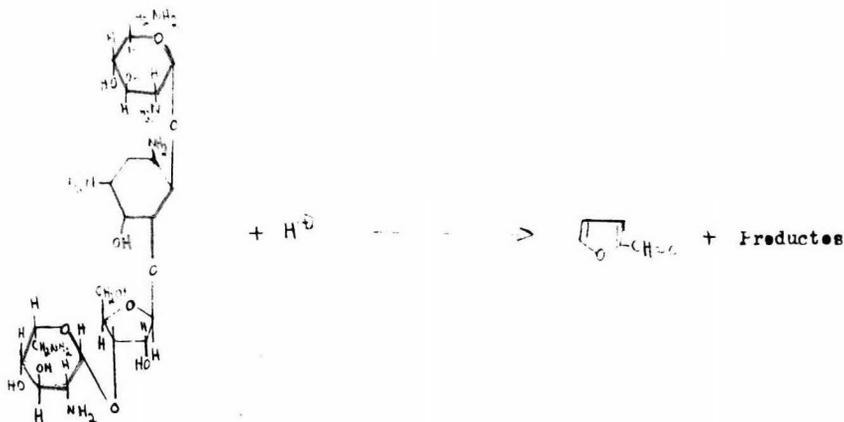
El cloruro férrico se utiliza en esta reacción para intensificar el color. La solución de cloruro férrico utilizada, es una solución molar (2.7 g. de cloruro férrico en 10 ml. de agua). Las preparaciones de esta solución, hechas al principio del experimento, se veían ligeramente turbias; no dándole importancia a este hecho.

Se tomó un frasco nuevo de este reactivo, y al preparar la solución molar, se ve la solución límpida; unido a esto, se obtienen lecturas mayores (se intensifica la coloración). Sin embargo, se quisieron hacer las placas variando el adsorbente, para no tener dudas acerca de -

la variación del color.

El motivo de aplicar para cada placa patrón y blanco es con el fin de minimizar errores; para que las condiciones de todo el proceso - fueran las mismas. Se hacen nuevas placas con una concentración de 300-mcg. para que la absorción se encuentre en rangos confiables como se observa en la gráfica 2.

(^^) El color obtenido, se debe a la reacción entre el orcinol y el furano obtenido de la hidrólisis ácida del sulfato de neomicina. El cloruro férrico se utiliza para intensificar el color solamente.



Compuesto colorido.

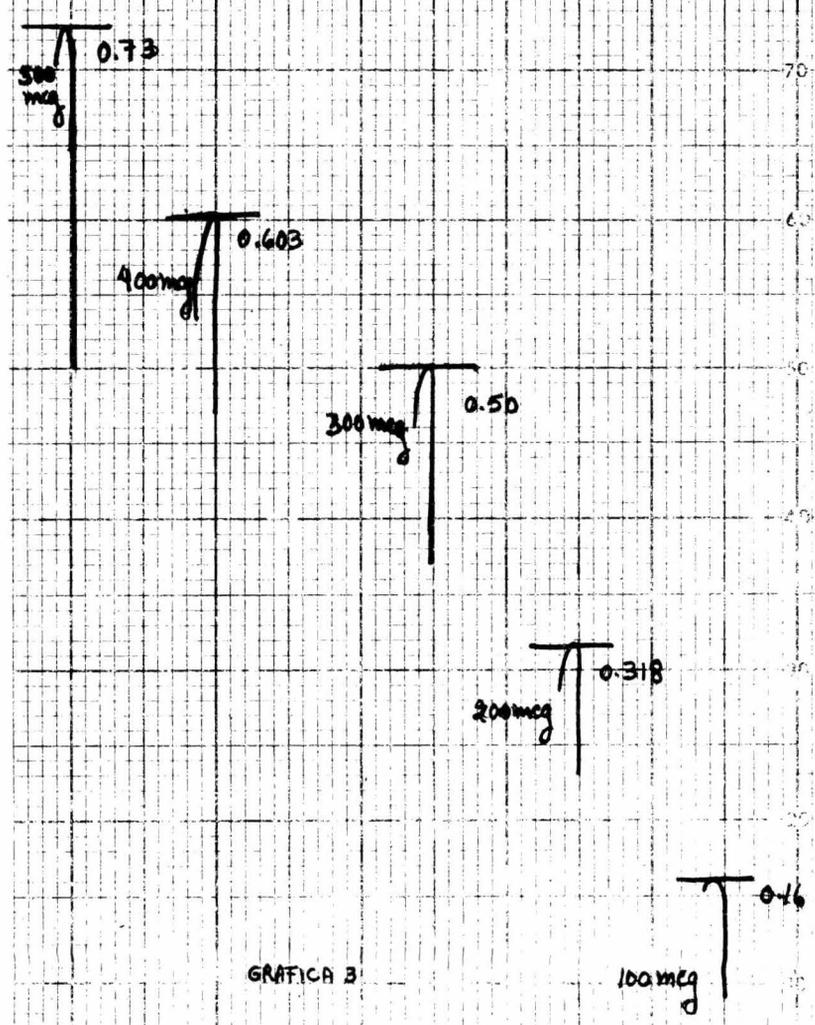
(^^) citas 20 y 21

IV. R E S U L T A D O S

Como se obtienen resultados más confiables con 300 mcg. de muestra, se creyó conveniente cambiar la concentración, porque con 400 mcg. la absorción es muy alta.

Se hizo una nueva serie de placas en las que se usó un patrón - de 700 mcg/mg. de potencia; se hizo la curva patrón. La absorbancia promedio fue 0.5 y fue muy cercana en 16 placas consecutivas; esto se puede observar en las gráficas siguientes:

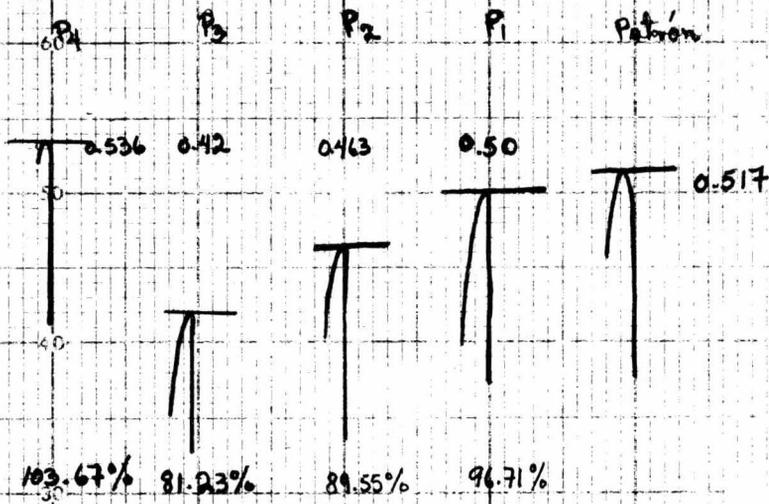
Curva Padrão de sulfato de neomicina.
Potência: 700 mcg / mg.
Com reatibo de Orcinol - cloruro Férrico a 665 nm



GRAFICA 3

Patrón USP 700 mg pot.

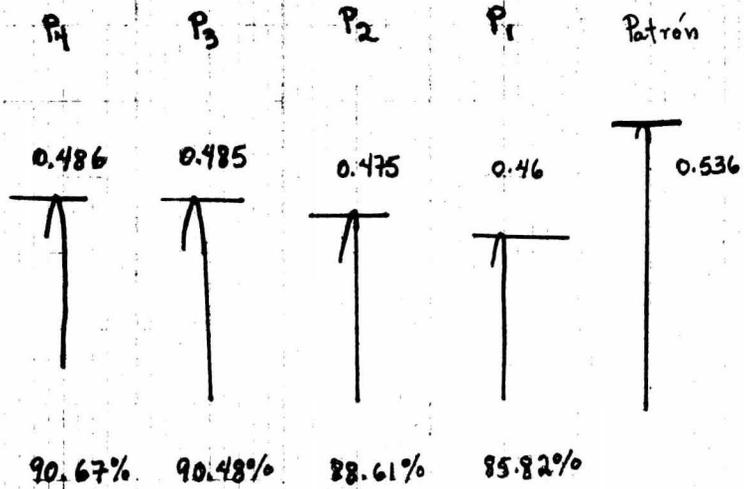
Valoración de sulfato de Neomicina en el aerosol spray
con respecto de grámulo de cloruro Férrico a 665 mU.
Concentración 300 mg.



gráfica No. 4

Patrón I.S.P. 700 mg de sulfato

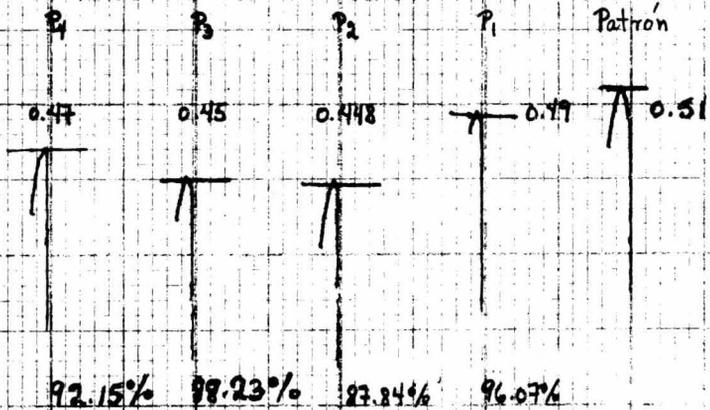
Valoración de sulfato de neomicina con el alcohol 40%
con reactivo de Grignol - Cloruro Férrico a 50 mg/L
concentración: 300 mg/L



gráfica No. 5

Patrón USP 700 mg de potasio

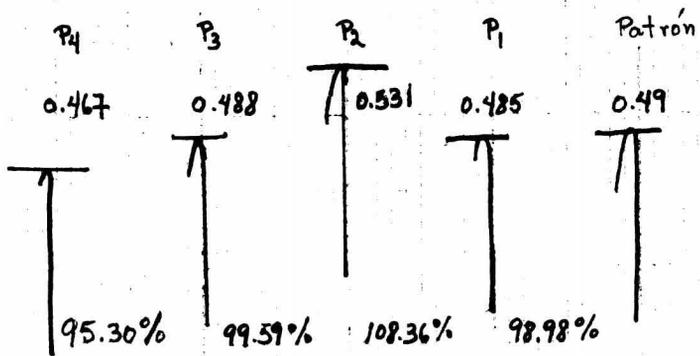
Valoración de sulfato de magnesio en Rosell
Spray con Arcimol - Clonid Hémis a 66.5 mg/l
Conc. 300 mg



gráfica No. 6

Factor de P. 100 veces potencia

Valores de índice de actividad en el nivel
que se muestra en el Factor a 665 mU



gráfica No. 7

Patrón USP 700 mg de potémico

Valoración de sulfato de neomicina en Alcohol Spring
con orcinol - cloruro Férmico a 665 m μ

Cave 300 mg

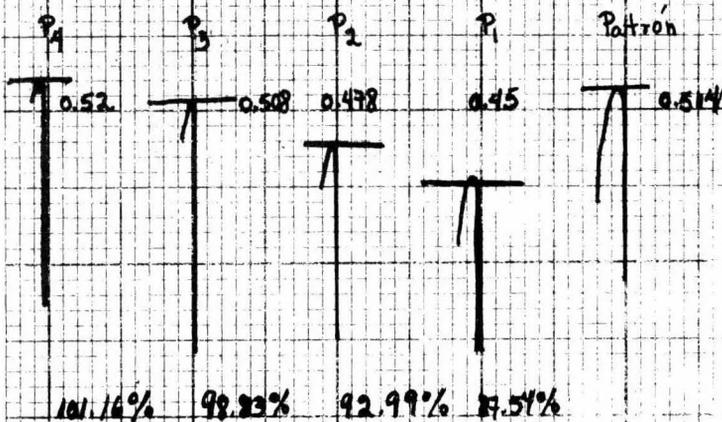
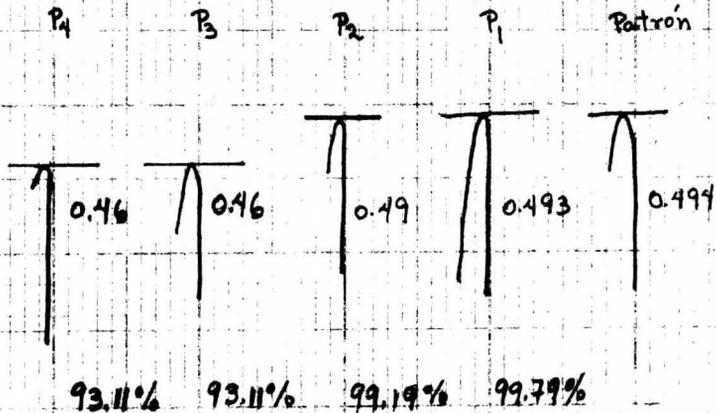


gráfico No. 8

Patrón USP 700 mcg de potencia

Valoración de sulfato de resorcinol en cloroformo con ácido - cloruro Férrico a 655 m μ .

Conc. 300 mcg



gráfica No. 9

Se usó un espectrofotómetro con un graficador que se puede manejar manualmente; de ahí que se pueda marcar el punto máximo en las gráficas.

Se lee el patrón, dejando correr la gráfica de 700 a 640 nm. - Se coloca el botón en IDLE (desocupado), para tener la aguja estable; se marca manualmente la longitud de onda, se baja la aguja, se corre el papel (con un rodillo manual del graficador), de manera que marque la raya del máximo, como se ve en las gráficas; se pone en IDLE nuevamente, con el mismo rodillo, se corre el papel al siguiente cuadro; de ahí, se empieza a correr el problema 1 (P_1), haciendo las mismas manipulaciones -- que para el patrón.

Los resultados obtenidos en % se muestran en la siguiente tabla:

	Valores obtenidos en %	Valores redondeados en %
1.-	80.0	80.0
2.-	80.50	81.0
3.-	81.23	81.0
4.-	82.11	82.0
5.-	82.16	82.0
6.-	82.66	83.0
7.-	83.84	84.0
8.-	85.59	86.0
9.-	85.82	86.0

	Valores obtenidos en %	Valores redondeados en %
10.-	86.89	87.0
11.-	87.19	87.0
12.-	87.54	88.0
13.-	87.84	88.0
14.-	87.97	88.0
15.-	87.97	88.0
16.-	88.23	88.0
17.-	88.61	89.0
18.-	89.40	89.0
19.-	89.55	90.0
20.-	90.48	90.0
21.-	90.67	91.0
22.-	91.17	91.0
23.-	91.55	92.0
24.-	92.15	92.0
25.-	92.99	93.0
26.-	93.11	93.0
27.-	93.11	93.0
28.-	94.11	94.0
29.-	95.3	95.0
30.-	95.36	95.0
31.-	95.5	96.0
32.-	96.07	96.0

	Valores obtenidos en %	Valores redondeados en %
33.-	96.71	97.0
34.-	97.05	97.0
35.-	98.09	98.0
36.-	98.09	98.0
37.-	98.83	99.0
38.-	98.98	99.0
39.-	99.19	99.0
40.-	99.41	99.0
41.-	99.59	100.0
42.-	99.79	100.0
43.-	100.0	100.0
44.-	101.16	101.0
45.-	103.65	104.0
46.-	103.67	104.0
47.-	105.88	106.0
48.-	106.7	107.0
49.-	107.0	107.0
50.-	107.35	107.0
51.-	107.5	108.0
52.-	108.36	108.0
53.-	108.82	109.0
54.-	109.75	110.0
55.-	109.80	110.0
56.-	110.0	110.0

En ella podemos ver que fluctúan entre 80 y 110%; de aquí obtuvimos una desviación estandar "s" de 8.5 y esto nos da los límites: - - 86.5-103.5; dando un promedio de 94.91%.

Se hicieron los cálculos siguientes:

X_i	F	FX_i	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
80	1	80	-14.91	222.30	222.30
81	2	162	-13.91	193.48	386.96
82	2	164	-12.91	166.66	333.33
83	1	83	-11.91	141.84	141.84
84	1	84	-10.91	119.02	119.02
86	2	172	- 8.91	79.38	158.76
87	2	174	- 7.91	62.56	125.12
88	5	440	- 6.91	47.74	238.7
89	2	178	- 5.91	34.92	69.84
90	2	180	- 4.91	24.10	48.2
91	2	182	- 3.91	15.28	30.56
92	2	184	- 2.91	8.46	16.92
93	3	279	- 1.91	3.64	10.92
94	1	94	- 0.91	0.82	0.82
95	2	190	0.09	0.008	0.016
96	2	192	1.09	1.18	2.36
97	2	194	2.09	4.36	8.72
98	2	196	3.09	9.54	19.08
99	4	396	4.09	16.72	66.88
100	3	300	5.09	25.90	77.7
101	1	101	6.09	37.08	37.08
104	2	208	9.09	82.62	165.24
106	1	106	11.09	122.98	122.98
107	3	321	12.09	146.16	438.48
108	2	216	13.09	171.34	342.68
109	1	109	14.09	198.52	198.52
110	3	330	15.09	227.70	683.1
	<u>56</u>				<u>4066.02</u>

$$\bar{X} = \frac{\Sigma F X}{n} = \frac{5315}{56} = 94.91$$

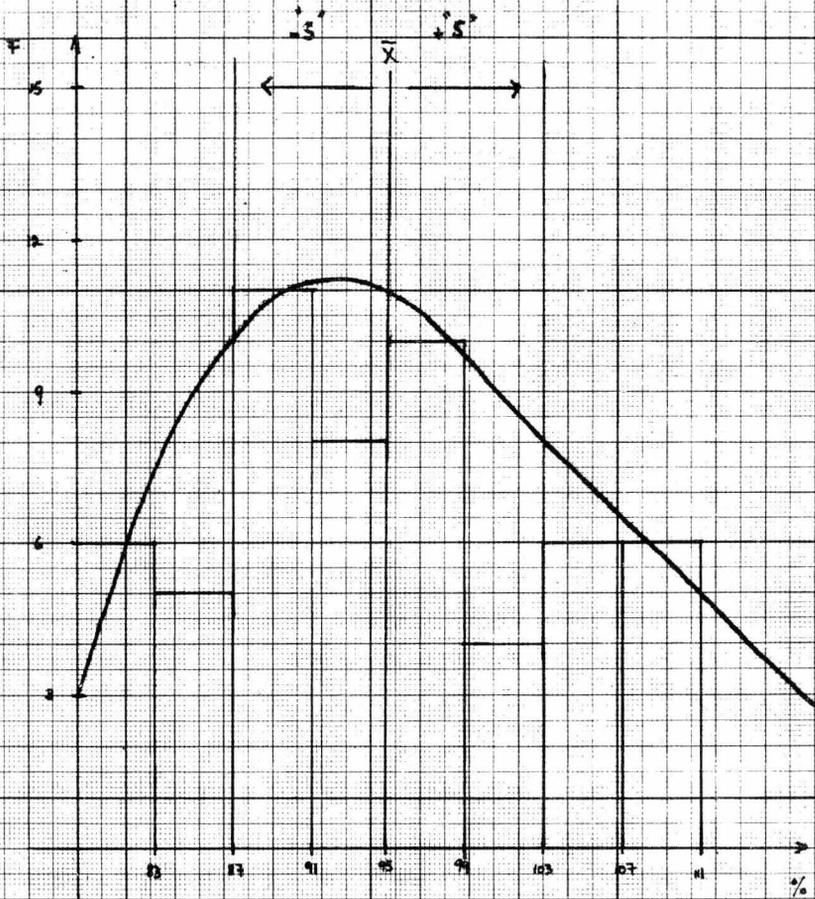
$$s = \sqrt{\frac{\Sigma F(X-\bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{4066}{55}} = 8.5$$

S con respecto a la media: $\bar{X} \pm s$

$$94.91 \pm 8.5 \left\{ 86.5 - 94.91 - 103.5 \right.$$

La gráfica que se obtendría sería como sigue:

Valvación de Sulcato de neomicina en Alasol Spray.
 $\bar{X} = 94,91\%$
 Frecuencias: $\bar{X} \pm 1/2 S''$



GRAFICA DE % CONTRA FRECUENCIAS.

C O N C L U S I O N E S

De acuerdo con estos resultados, podemos concluir que el método es confiable para esta valoración, puesto que el valor de \bar{X} es 94.91%; - con los resultados de la valoración química, podemos relacionar la potencia, ya que el grupo que se valora que es la fracción de ribosa, es el que da el efecto terapéutico en el caso de este antibiótico; de esta manera relacionamos la potencia así:

Si 300 mcg. del patrón con 700 mcg/mg. de potencia, nos absorben 0.517 en la gráfica número 3; y el problema 1, nos absorbe 0.5, decimos:

700 mcg. ---- 0.517

X ----- 0.5

X o sea P_1 , tendrá una potencia de 676.9 mcg.

Esto se pudo comprobar, haciendo reaccionar una muestra de sulfato de neomicina de 1970; ésta nos da una absorbancia de 0.253 y calculando con el patrón de 700 mcg., nos da una potencia de 342.5 mcg.

700 mcg. ----- 0.517

X ----- 0.253

Lo cual nos indica que la valoración química se relaciona en --
forma directa con la potencia.

Podemos también por consecuencia, hacer la valoración del sulfa
to de neomicina en la mezcla de alosol en proceso de fabricación (antes-
de llenar los frascos).

Para calcular los miligramos de sulfato de neomicina por frasco,
haremos el siguiente cálculo: El patrón con 100 mg. absorbe 0.517; si -
el problema absorbe 0.5, la relación es la siguiente:

100 mg. ----- 0.517

X ----- 0.5

X = 96.7 mg.

Para 100 mg. me da el problema 96.7 mg.

Para 200 mg. me dará ----- X

X= 193.4 mg/fco.; los límites son 180-220 mg./fco. o sea 200 mg
+
- 10%

Esta valoración, nos da resultados positivos y nos ahorra tiem-
po, ya que el trabajo se puede efectuar en 9 horas aproximadamente, a di
ferencia del método microbiológico que además de ser más costoso es más-
tardado. El patrón que se usa puede ser USP, o bien un patrón secunda--
rio del cual se tenga el dato exacto de la valoración de potencia. Los-

reactivos son económicos, al alcance de cualquier laboratorio industrial y las cantidades usadas son muy pequeñas por lo que consideramos que esta valoración es sumamente económica desde cualquier punto de vista.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Foppiano R. y Brown B.B. (1965). Quantitative Analysis of Neomycin Sulfate by thin Layer Chromatography. J. Pharm. Sci. 54-206.
- 2.- E.G.C. Clarck. Isolation and identification of Drugs. The Pharmaceutical Press. 1969. p. 437-438.
- 3.- Raymond E. Kirk. Enciclopedia de Tecnología Química. UTEHA. Tomo - VI 1962. p. 45-51.
- 4.- Egon Stahl. Thin Layer Chromatography 1965. Edit. Springer Verlag-New York Inc. 1969 pp. 52-105 y 148-155.
- 5.- Drill Victor A. Farmacología Médica. La Prensa Médica Mexicana. - 1969. pp. 1491-1492.
- 6.- Merck Index. Eight Edition. Edit. Merck & Co., Inc. 1968 pp. 721,- 723, 724.
- 7.- Torres Tello de Meneses Antonio. Tesis. Método de valoración experimental espectrofotométrico de neomicina y algunos medicamentos. 1962.
- 8.- Dr. Albert M. Walter y Prof. Dr. Ludwig Heilmeyer. Antibióticos y Quimioterápicos en la Terapéutica moderna. Edit. Praxis, S.A. 1958. pp. 130-132.

- 9.- Dr. P. Font Quer. Medicamenta. Guía Teórico Práctica. Tomo III, Sex ta Edición. Edit. Labor, S.A. 1962. p. 966.
- 10.- Armando Novelli. Química Orgánica (aciclica). Edit. "El Ateneo". - 1950 pp. 766-767.
- 11.- New and Nonofficial Drugs. Edit. J.B. Lippincott Company. 1964 p.60
- 12.- Q.F.B. María del Consuelo Hidalgo y Mondragón. Farmacia Química. - Edit. Alhambra, S.A. 1969. pp. 512 a 514.
- 13.- Chase-Dens-Gennaro-Gibson-Harvey-King-Martin-Swinyand-Van Meter- - Within-Osol-Hoover. Remington's Pharmaceutical Sciences. Fourteen Edition. Edit. Mack Publishing Company. 1970. p.p. 1219-1220.
- 14.- Helmut Determann. Gel Chromatography. Edit. Springer Verlag. New - York Inc. 1968. pp. 78-82.
- 15.- Ana Victoria Galindo Lomelín. Tesis. Determinación de Esculina en extractos de Castaño de Indias por Cromatografía en placa delgada. 1967.
- 16.- Mercedes Navarrete Campos. Tesis. Valoración cuantitativa de Progesterona en Inyectables por Cromatografía en capa delgada. Orizaba, - Ver. 1973.
- 17.- Bianca Tchoubar. Mecanismos de Reaccion en Química Orgánica. Ed. Limusa Wiley, S.A. 1965.
- 18.- The Pharmacopeia of the United States of América. Eighteen Revi- sion. 1970. pp. 441-442.
- 19.- Higuchi Takeru and Brochmann-Hanssen Einar. Pharmaceutical Analy-- sis. Edit. Interscience Publishers. 1961. pp. 583 a 586.

- 20.- Sidney Siggia, Ph. D. Quantitative Organic Analysis. Via Functional groups. John Wiley and Sons, Inc. 1963. p.p. 119-120.
- 21.- M. Pesez-P. Poirier. Méthodes et Reactions De L'Analyse Organique.- I. Masson & Cie. 1954. p. 146.